



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL
INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

Unidad Monterrey

***Caracterización del ruido en sistemas de regulación
génica que presentan comportamientos dinámicos
complejos***

Tesis que presenta

Aarón Vázquez Jiménez

Para obtener el grado de Maestro en Ciencias en:

Ingeniería y Física Biomédicas

Director de tesis

Dr. Jesús Guadalupe Rodríguez González

Apodaca, Nuevo León

Agosto 2013

Agradecimientos

Agradezco de la manera más atenta al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y al Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV) Unidad Monterrey por haberme otorgado los medios económicos y la infraestructura para realizar mi maestría en ciencias con la especialidad en Ingeniería y Física Biomédica, en el periodo 2011-2013.

De la misma manera agradezco con gran respeto al Dr. Jesús Rodríguez por colaborar de forma sinérgica en el desarrollo del presente proyecto y de mi formación como nuevo investigador. Así mismo a todos aquellos investigadores docentes que sin tener responsabilidad alguna me brindaron su apoyo y conocimiento, así como su particular punto de vista sobre la fenomenología de la vida.

Finalmente, y no por eso menos importante; a mis colegas, por su interés y cuestionamientos sobre el conocimiento como última instancia de desarrollo personal.

Índice

Resumen	9
Abstract	11
Introducción	13
Marco conceptual.....	14
○ Flujo de Información genética	14
○ Regulación de la expresión génica	16
○ Comportamientos dinámicos complejos.....	16
○ Ruido.....	17
Antecedentes	17
Objetivos	21
Objetivo general	21
Objetivos particulares	21
Metodología	23
Modelo	23
Modelo Determinista	24
Estimación de parámetros.....	25
Algoritmo de Gillespie	25
Modelado de la Fuente de Ruido Extrínseco.....	26
Algoritmo.....	28
Cuantificación de Ruido.....	29
Coeficiente de correlación de Pearson.....	30
Tiempos de encendido y apagado.....	30
Efecto de la fuente de ruido extrínseco sobre la distribución en población.....	31
Simulación	31
Resultados y Discusión	33
Sistema Monoestable.....	33
○ Validación determinista.....	33
○ Validación estocástica	34

○	Análisis de correlación	36
○	Cuantificación de η_{xt} y η_{int}	38
	Sistema biestable	44
○	Validación determinista	44
○	Validación Estocástica	45
○	Caracterización de $toff$ y ton	46
○	Estudio en población	53
○	Análisis de correlación	56
	Resumen	59
	Sistema monoestable	59
	Sistema biestable	59
	Conclusión	61
	Perspectivas	63
	Apéndice A	65
	Análisis deterministas para el modelo monoestable	65
	Apéndice B	69
	Análisis deterministas para el modelo biestable	69
	Apéndice C	75
	Análisis de un sistema con expresión constitutiva	75
	Referencias	81

Resumen

La expresión de genes es un proceso sensible a fluctuaciones debido a su naturaleza química y bajo conteo molecular: DNA, mRNA. A su vez, los organismos interactúan en un medio fluctuante. Como mecanismo de control, los organismos han desarrollado estructuras capaces de modificar su sensibilidad al ruido; uno de los mecanismos son los lazos de retroalimentación. Su funcionamiento se basa en la interacción entre las moléculas finales e iniciales creando un lazo cerrado de control.

Debido a la presencia de los diferentes lazos de retroalimentación (i.e. lazos de retroalimentación positivos y negativos) existen diferentes dinámicas y estabilidades asociadas (i.e. monoestabilidad y multiestabilidad) que dotan a los organismos de cualidades ventajosas ya sea para mitigar el ruido u obtener provecho de su presencia. Existe una tendencia marcada en poner énfasis a sistemas que no presentan regulación y aquellos con retroalimentación negativa con especial interés en las variables internas que ocasionan aleatoriedad, suponiendo que el medio externo es homeostático.

En el presente proyecto teórico se tuvo como objetivo principal estudiar y caracterizar el efecto generado por las dos fuentes de ruido (extrínseca e intrínseca) en sistemas con retroalimentación positiva, los cuales a su vez generan dinámicas de monoestabilidad y multiestabilidad; mediante el uso de un modelo matemático estocástico.

Se modelaron las diferentes fuentes de ruido; implementando el algoritmo de Gillespie y agregándole variabilidad externa, considerando variabilidad paramétrica en las tasas de síntesis. Se midió el grado de correlación así como la cuantificación de las distintas componentes del ruido para el sistema monoestable particularmente. Para modelo biestable se estudió el efecto del ruido a través de la alternancia entre los dos posibles estados, así como su distribución en población.

Los principales resultados resaltan el efecto debido a la fuente extrínseca. Se determinó que la influencia del ruido extrínseco sobre los sistemas es correlacionar; interesantemente el periodo es un factor determinante. A su vez los organismos sacan provecho de la presencia de ruido extrínseco al provocar que el ruido inherente se vea disminuido (una reducción de ruido inducida por ruido). Finalmente, el ruido extrínseco se ve controlado mediante el valor de algunos parámetros (tasas de degradación y fuerza de lazo), esta información denota el mecanismo con el cual un organismo controla su percepción de ruido; por el lado de la ingeniería, es útil para la construcción de circuitos sintéticos robustos a ruido.

Abstract

The gene expression is a sensitive fluctuations process. Due to their chemical nature and a few counts of participants' molecules: DNA, mRNA. Also, the organisms are interacting in a fluctuating medium. A control mechanism development by the living organisms, are structures capable of modifying their sensitivity to noise. The used mechanisms are the feedback loops. Its operation is based on the interaction between the initial and final molecules creating a control loop.

Due to the presence of different feedback loops (i.e. positive and negative feedback loops) are associated with different dynamics and stabilities (i.e. monostability multistability and oscillations) that give advantageous qualities for the noise mitigation or to profit by their presence. There is a marked trend to study unregulated and negative systems loop systems. With a special interest in the internal fluctuation component, assuming that the externally is a homeostatic environment.

In the presented theoretical study the main objectives were: study and characterize the effect generated by the two noise sources (extrinsic and intrinsic) in systems with positive feedback loop. These systems in turn generated characteristic dynamics like: monostability and multistability. The made abstraction were planted by a stochastic mathematical model.

The different noise sources were modeled by implementing and modifying the Gillespie's algorithm. The modifications consist in considering the existence of parametric variability in the productions rates. The correlation grade was measured between the systems. Also were quantified the different noise components for the monostable system particularly. The study for the bistable system was planted to analyze the noise effect in the transitions rates between two phenotypic states and the population distribution of the different states.

The main result suggests and highlights the effect due to the extrinsic noise. It was determined that the influence of the extrinsic noise over the systems results in a coordination. That not only depends on the noise intensity, the stimulation period interestingly it's a crucial factor for reach the coordination. The organisms acquire benefits of the extrinsic noise causing an inherent noise reduction (noise reductions induced by noise). Finally, the extrinsic noise it's controlled by some parameters (the degradations rates and the feedback strength) suggesting the mechanism by an organism controls their noise perception. In an engineering manner, this information is useful for the construction of synthetic circuits robust to the noise presence.

Introducción

Un organismo vivo en una población posee características que lo hacen único de forma mesoscópica, generando cuestionamientos de los orígenes de tales diferencias aún en organismos genéticamente idénticos, incluso cuando los procesos biológicos parten de estructuras altamente reguladas y ordenadas.

Si se centra el estudio en un solo organismo a nivel celular, a pesar de que el conjunto de células se encuentren en las mismas condiciones ambientales y posean los mismos genes, se observan variaciones en forma y comportamiento que pueden provocar efectos sutiles o dramáticos. Si se adentra más en los orígenes de la variabilidad se encuentra el proceso de expresión génica. Lo cual hace más interesante la pregunta sobre la razón, fuente y causa de la existencia de fluctuaciones en el proceso vital que dota de características determinadas a un organismo.

Se sugiere que la variabilidad es inevitable en los sistemas biológicos debido a la naturaleza aleatoria de las reacciones químicas que suceden dentro de la célula (van Kampen, 1992). Los mecanismos de expresión génica son interacciones químicas.

Las reacciones químicas están regidas por ocurrencias y velocidades de reacción aleatorias; que a gran escala la aleatoriedad se ve mitigada, aunque a escalas de bajo conteo molecular provoca un efecto sensible sobre la dinámica. Esto, en el caso de expresión de genes impacta en la abundancia de un producto derivado del proceso de expresión. Influenciando el comportamiento celular.

Se explica que uno de los orígenes de variabilidad es debido a que el DNA, RNA y proteínas pueden estar en pocas copias en la célula (i.e. proteínas como el triptófano, existencia de una cadena de ADN por célula) por lo que la abundancia de los productos de la expresión de genes teóricamente son sensibles a fluctuaciones estocásticas (Raser y O'Shea, 2005).

Al proceso que produce variabilidad se le denomina ruido, para este caso particular ruido bioquímico. Por lo que en el proceso de expresión génica existe ruido.

A pesar de que los procesos biológicos presenten ruido por su naturaleza inherente química, existen otras fuentes de variabilidad como mutaciones o condicionamiento medio ambiental provocando una suma efectos.

La variabilidad asociada a un proceso se cree perjudicial, aunque los organismos, debido a su alta adaptabilidad, poseen mecanismos para obtener ventajas competitivas con respecto a otros induciendo dinámicas características (i.e. sincronización). El ruido se vuelve benéfico. Los organismos poseen mecanismos: para amortiguar las fluctuaciones y sacarles provecho.

Marco conceptual

A continuación se presentan un conjunto de definiciones necesarias para el desarrollo del presente proyecto.

○ Flujo de Información genética

De manera biológica una de las funciones de los organismos es la preservación de la especie. La preservación conlleva a que debe de existir cierto grado de conservación de información además de tener la capacidad de responder y contender ante un determinado entorno. La unidad fundamental de información en un sistema vivo es el gen. Bioquímicamente es un segmento de DNA, que contiene la información necesaria para producir una molécula funcional (usualmente una proteína) así como el conjunto de instrucciones necesarias para su expresión (Nelson y Cox, 2005)

Al conjunto de genes se le denomina *genoma*, el cual es el encargado de almacenar y codificar la información necesaria para la formación, mantenimiento y reproducción de un organismo vivo.

La funcionalidad de la información genética radica en la expresión y preservación de la misma, esto está esquematizado en el dogma central de la biología molecular (Figura 1) el cual aglomera tres procesos celulares en los que la información genética es determinante.

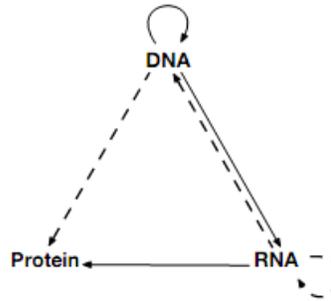


Figura 1: Dogma central de la biología molecular. Las líneas solidas indican la vía común para el flujo de información. Las líneas discontinuas representan otras posibles vías del flujo de información. Crick, 1970

El primero de los procesos es la *replicación*, es decir, la duplicación del DNA de una célula madre a células hijas; las hijas tienen exactamente la misma información genética.

Como segundo proceso se da la *transcripción*, proceso en el cual un segmento de información contenida en el DNA es copiado de forma complementaria en RNA.

Finalmente, en el proceso de *traducción*, se decodifica la información en un polipéptido con una secuencia particular de aminoácidos.

Para la expresión de un gen los procesos más importantes son la transcripción y traducción

Transcripción

Proceso que, de forma resumida, sintetiza RNA, los cuales son de tres tipos: mRNA (mensajeros) que codifican la secuencia para proteínas; tRNA (de transferencia) decodifican la información contenida en el mRNA y transfieren el apropiado aminoácido a la cadena polipeptídica; y rRNA (ribosomal) el cual forma parte de los ribosomas que son la maquinaria que sintetiza las proteínas.

Traducción

A partir de la traducción se sintetizan proteínas. Es un mecanismo regido por 5 procesos intermedios:

1. Activación de aminoácidos, el lado carboxyl de cada aminoácido debe ser activado para la correcta unión con el tRNA;
2. Iniciación, El ribosoma reconoce el sitio de unión al mRNA maduro y se une a él, formándose así el complejo de iniciación;
3. Elongación, se forma una hebra de aminoácidos (polipéptido);
4. Terminado y liberación, se agrega el codón de terminación y se libera la hebra del ribosoma;
5. Plegamiento y procesamiento post-traduccional, mediante procesos enzimáticos la proteína se vuelve funcional.

- **Regulación de la expresión génica**

La complejidad en la expresión de genes no está determinada por el tipo o tamaño de proteína que se sintetice, sino por los mecanismos de regulación de los mismos. El sistema debe de tener la capacidad de controlar cuáles y cuándo deben expresarse los distintos genes; para esto existen diversos medios para llevar a cabo la regulación. Un medio, es la existencia de redes de regulación. Una red de regulación se puede descomponer en distintos bloques de regulación sencillos llamados *motivos* (Alon, 2006). Los motivos de interés para el presente trabajo son los auto-catáliticos y constitutivos mencionados a continuación.

- a. **Constitutivo:** El modelo más sencillo de expresión en la que el inicio de la de traducción no está regulado.
- b. **Regulación Auto-catalítica:** Existe una interacción entre las primeras y las últimas moléculas, generando un circuito cerrado (lazo de retroalimentación). Si la interacción frena el proceso de expresión es un sistema retroalimentado negativamente; en cambio, si la interacción promueve la expresión es una retroalimentación positiva.

Por otro lado, la transcripción es un proceso regulado, uno de los mecanismos de regulación es la existencia del promotor. Es una zona que controla el inicio de la transcripción, sitio en la cual la RNA polimerasa (molécula efectora de la transcripción) se une debido a su alta afinidad entre ellas. El promotor, al ser un regulador, inhibe (mediante su inactivación) o potencializa (a partir de su activación) la transcripción. A pesar de que el promotor se encuentre en estado inactivo existe probabilidad que se dé la transcripción debido a la aleatoriedad del medio siendo un estado de expresión basal.

La regulación en los sistemas bioquímicos está muy relacionada a los comportamientos dinámicos generados descritos por la teoría de dinámica no lineal.

- **Comportamientos dinámicos complejos**

De acuerdo al mecanismo de regulación el sistema presenta diversas dinámicas: monoestabilidad, multiestabilidad y oscilaciones. La monoestabilidad hace relación a que existe un solo estado estacionario, lo cual denota que el sistema converge a un valor finito a un tiempo finito y una vez alcanzado conserva su estado de inercia. La monoestabilidad puede ser generada por sistemas constitutivos, con retroalimentación positiva y negativa (Strogatz, 1994)

En la multiestabilidad, el número de estados estacionarios posibles es mayor a uno, el estado alcanzado depende de la condición inicial que tome el sistema. Puede haber una alternancia entre los dos estados siempre y cuando exista una fuente de perturbación. Los sistemas con retroalimentación positiva son fuertes candidatos a presentar multiestabilidad (Angeli *et al.* 2003).

Las dinámicas oscilantes, son aquellos sistemas que fluctúan en el tiempo a una frecuencia dada. Para que un sistema oscile debe existir retroalimentación positiva y su grado de no linealidad debe de ser elevado (Novák y Tyson, 2008). Estos sistemas presentan estabilidad dinámica.

Una de las atribuciones ejercidas a la presencia del lazo de retroalimentación es la atenuación del ruido.

- **Ruido**

El ruido es un proceso caracterizado y descrito en muchas áreas del conocimiento, se define como un proceso estocástico que produce variabilidad (Browsher y Swain, 2012). Biológicamente se le asocia el nombre de ruido bioquímico, definiéndolo para el caso de expresión de genes, como un proceso estocástico que produce variabilidad en la expresión, por lo que un gen bajo influencia del ruido puede expresarse a tasas diferentes en el tiempo o expresarse con diferencias con respecto la expresión de un homólogo. Existen fuentes de diferente naturaleza que provocan variación genética.

El ruido bioquímico total se descompone en intrínseco (η_{int}) y extrínseco (η_{ext}), estas dos componentes se conjugan en procesos aleatorios (Paulsson, 2004). El ruido intrínseco nace de procesos como la unión de la RNA polimerasa al promotor o la eficiencia de la degradación, provocando que exista variabilidad entre organismos genéticamente idénticos (Raser y O'Shea, 2005). El proceso de expresión se lleva a cabo dentro de un medio en el cual las moléculas efectoras varían en número al igual que la materia prima. A este tipo de fuente de variación se le denomina ruido extrínseco; afectando de manera global a sistemas homólogos (Earnest *et al.*, 2013).

Antecedentes

La aleatoriedad en los procesos intracelulares ha sido predicha desde principios físicos básicos (Schroedinger, 1944) y observada en la heterogeneidad fenotípica (Novick y Weiner, 1957; Maloney y Rotman, 1973). De los primeros estudios que cuantificaron el efecto de la variación usando pruebas fluorescentes fueron: Løbner-Olesen (1999) Becskei y Serrano (2000) Ozbudak *et al.* (2002) Elowitz *et al.* (2002) y Blake *et al.* (2003)

Cox et al. (2006) hace distinción de las dos diferentes fuentes de ruido en el proceso de expresión génica y establece que la fuente de variación extrínseca para el proceso de transcripción es la variación en la cantidad de RNA polimerasas, Ribonucleótidos y moléculas de ATP; estas variaciones provocan que la razón a la cual se transcribe siga una distribución de probabilidad. De igual forma, para el proceso de traducción, las variables extrínsecas son el número de aminoácidos, ribosomas y tRNA; impactando directamente en la tasa de producción de proteínas. Otros autores relacionan la variación de producción de estos procesos como fuente de ruido extrínseco para sistemas biestables (Choi, 2004. Earnest et al, 2013).

Elowitz *et al.* (2002) examinaron y cuantificaron experimentalmente el ruido asociado a los procesos de transcripción y traducción; observando la expresión de dos proteínas fluorescentes contenidas en un plásmido controladas por el mismo promotor. A dichos procesos de expresión se le sumó la afectación del entorno intracelular.

El modelo mental que después se convirtió en experimental, consistió en implementar dos sistemas bajo las mismas condiciones y perturbaciones; en el que se tienen dos fuentes de ruido características -intrínsecas y extrínsecas-. Si sólo hubiese influencia externa, el nivel de expresión de ambas proteínas sería la misma; si únicamente existiese una fuente interna de variación, la expresión se daría de manera independiente. Sin embargo, el efecto de ruido total está caracterizado por el aporte de ambas fuentes.

Bajo este modelo se comprobó que el ruido extrínseco correlaciona la expresión de genes y el intrínseco la des-correlaciona. Determinando que cuando sucede una variación (como efecto del entorno) en las tasas de activación del gen y producción de mensajeros en función del tiempo; se incrementa la cantidad de ruido intrínseco y extrínseco percibido por el sistema. Resultados recopilados por Kærn *et al.* (2005) mostrando que tal efecto en la correlación se ha visto en sistema con retroalimentación negativa y de expresión constitutiva.

El modelo de expresión constitutiva experimental de Elowitz *et al.* (2002) es un modelo sencillo conceptualmente ya que no posee regulación. Aunque la expresión genética se ve regulada debido al coste energético que conlleva este proceso (Nelson y Cox, 2005), por lo que Shahrezaei *et al.* (2008) propusieron un modelo teórico de la expresión de un gen con retroalimentación negativa. De sus resultados sobresalientes muestran que las componentes del ruido se muestran más sensibles ante las tasas de producción de mensajeros y proteínas. Y la fuerza de lazo disminuye la cantidad de ruido extrínseco percibido pero aumenta la componente intrínseca.

Los procesos descritos anteriormente no son los únicos. Becskei *et al.* (2001) menciona que las redes genéticas son la base de varios procesos biológicos, tales como oscilaciones biorríticas, la formación de patrón de desarrollo y el ciclo celular. La autorregulación es un elemento arquitectónico comúnmente utilizado en redes genéticas (Freeman, 2000). Circuitos genéticos, procariontes principalmente, explotan la retroalimentación negativa para asegurar la homeostasis (Thieffry *et al.*, 1998; Becskei y Serrano, 2000), mientras que activadores transcripcionales eucariotes comúnmente regulan su propia expresión tanto por retroalimentación negativa y positiva (Bateman, 1998).

La retroalimentación positiva es utilizada ampliamente, por ejemplo en una cascada quinasa activada por mitógenos (MAP) de oocitos ha sido implicada en la conversión de una respuesta gradual a una binaria (Ferrell y Machleder, 1998). La influencia del ruido en tales sistemas no está completamente caracterizada ya que su estudio se ha realizado para la componente intrínseca (Browsher y Swain, 2012).

Los sistemas biestables presentan comportamientos tipo switch y están descritos en: operón lactosa y triptofanasa en *e. coli* y la motilidad bacteriana (estados persistente y de tumbo).

La mayoría de los estudios con sistemas con retroalimentación positiva se basan en la propagación del ruido, pero no se ha estudiado el efecto de la variación paramétrica. Por otro lado se ha descrito la correlación, únicamente en función de la intensidad del ruido extrínseco, y no ha sido caracterizado el efecto que el periodo de estimulación (como parámetro de la fuente externa) ejerce sobre la misma para el caso de sistemas monoestables. Para los sistemas biestables la caracterización realizada está en función de los tiempos de cambio de estado pero solo para intensidades del ruido extrínseco y no hay una caracterización con respecto al periodo de estimulación.

Una limitación de los estudios teóricos hechos con retroalimentación positiva es la aproximación a partir de ecuaciones de Langevin las cuales pueden ser resueltas para sistemas lineales o para aquellos que su no linealidad esté bien caracterizada. Se sabe que los sistemas de regulación tienen dinámicas no lineales (Alon, 2006).

Además no existen estudios sobre el efecto por el periodo de estímulo es que no se ha explorado el hecho de encontrar estados de resonancia para los sistemas. Por estas faltantes en la caracterización de las componentes del ruido en sistemas con retroalimentación positiva nace la motivación del presente proyecto.

Objetivos

Objetivo general

Caracterizar y estudiar la influencia del ruido intrínseco y extrínseco (particularmente) en sistemas de expresión génica que presentan comportamientos dinámicos complejos.

Objetivos particulares

Caracterizar y estudiar la influencia de ambas componentes del ruido bioquímico en:

- ▶ Sistemas monoestables
- ▶ Sistemas biestables

Metodología

Modelo

El modelo a estudiar consiste en un circuito de regulación genética con retroalimentación positiva al nivel del promotor Figura 2. El sistema descrito a continuación se ocupó para describir ambos sistemas (multiestable y monoestable) pero con diferencias topológicas discutidas más adelante.

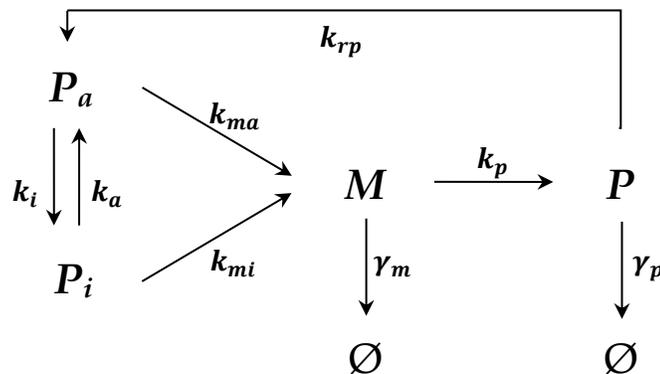


Figura 2. Circuito de regulación genética con lazo de retroalimentación positiva al nivel del promotor

El circuito consta de cuatro etapas fundamentales; la primera es el estado del promotor: activo (P_a) o inactivo (P_i) Para la transición entre un estado u otro se le asocia ciertos valores a las tasas de activación y desactivación k_a y k_i respectivamente. Como segunda etapa está el proceso de

transcripción, el resultado es la síntesis de mRNA maduro (M); el cual se produce a una tasa mayor cuando el promotor está activo (k_{ma}) en comparación que cuando está inactivo (k_{mi}). La tercer etapa es la traducción (síntesis de proteínas, P , bajo a una tasa de producción k_p), tanto mRNA como proteínas tienen un tiempo de vida media, a este proceso de degradación se le asocia una tasa γ_m y γ_p respectivamente; finalmente el lazo de retroalimentación positiva el cual tiene una fuerza (inverso de k_{rp}).

Cabe resaltar que el modelo ocupado no es desarrollado para un sistema particular, es una formulación general para cualquier sistema que su proceso de expresión génica pueda representarse de la misma manera.

Modelo Determinista

La dinámica del sistema representado en la Figura 2 se modela mediante un conjunto de ecuaciones diferenciales ordinarias, mostradas a continuación. En donde P_a , M y P representan las concentraciones de promotor activo, mensajeros y proteínas respectivamente

$$\frac{dP_a}{dt} = k_a f(P)_i (1 - P_a) - k_i P_a \quad (5)$$

$$\frac{dM}{dt} = k_{ma} P_a + k_{mi} (1 - P_a) - \gamma_m M \quad (6)$$

$$\frac{dP}{dt} = k_p M - \gamma_p P \quad (7)$$

$$f(P)_i = [f(P)_m, f(P)_{sw}] \quad (8)$$

$$f(P)_m = \left(\frac{k_{rp}^{nh} + P^{*nh}}{P^{*nh}} \right) \left(\frac{P^{nh}}{k_{rp}^{nh} + P^{nh}} \right) \quad (9)$$

$$f(P)_{sw} = \left(\frac{P^{nh}}{k_{rp}^{nh} + P^{nh}} \right) \quad (10)$$

La función $f(P)_i$ describe el lazo de retroalimentación para cada uno de los sistemas: monoestable ($f(P)_m$) y biestable ($f(P)_{sw}$). La diferencia entre las dos funciones radica en que $f(P)_m$ contempla un término que lo hace ser monoestable cuando el sistema se encuentra en estado estacionario. Donde P^* denota el valor de estado estacionario para las proteínas.

Cuando P_a, M y $P \gg 1$, la correspondiente desviación es pequeña comparada con los valores promedios, por lo tanto esta descripción es buena para el proceso de expresión génica a pesar de ser estocástica.

Estimación de parámetros

En vez de buscar valores de parámetros específicos de un sistema particular para el sistema monoestable, se escogieron valores representativos de la expresión génica en procariontas (Zeron & Santillán, 2010). Los valores nominales utilizados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1: Valores de parámetros estimados

Parámetro	Sistema		Unidades
	Monoestble	Biestable	
k_a	0.1	0.6	min ⁻¹
k_i	0.2	0.1	min ⁻¹
k_{ma}	14.0	14.0	min ⁻¹
k_{mi}	0.5	0.25	min ⁻¹
k_p	20.0	20.0	min ⁻¹
γ_m	1.0	1.0	min ⁻¹
γ_p	0.1	0.16	min ⁻¹
k_{rp}	100.0	400.0	Molec*min ⁻¹
nh	2	4	-

Los valores de los parámetros para el sistema biestable se obtuvieron a partir de la búsqueda de rangos en los que los parámetros k_{ma} y k_p pudieran variar sin salirse de la ventana de biestabilidad. Ver Apéndice B.

Algoritmo de Gillespie

En reacciones en donde el conteo molecular son del orden del número de Avogadro, las tasas de reacción representan el número de veces que la reacción ocurre por unidad de tiempo. Sin embargo, para conteos moleculares pequeños, a esas tasas (también llamadas propensiones) se les asocia una interpretación probabilística, denotando la probabilidad dada de ocurrencia de la reacción correspondiente por unidad de tiempo. Para propensiones pequeñas, el número de reacciones ocurridas en diferentes realizaciones del mismo experimento puede variar drásticamente. Debido a eso, una forma de estudiar la dinámica del sistema es hacer uso de simulaciones estocásticas tipo Montecarlo por medio del algoritmo de Gillespie (Gillespie, 1977), que se explica a continuación.

1. Inicializar el conteo molecular del sistema, y calcular las propensiones.
2. Aleatoriamente calcular el tiempo de espera para la ocurrencia de la siguiente reacción tomando en cuenta que obedece una distribución exponencial con parámetro igual a la propensión total.

3. Se escoge aleatoriamente cuál es la siguiente reacción en ocurrir, tomando en consideración que la probabilidad de que suceda la reacción es proporcional a su propensión.
4. Actualización del tiempo del sistema y del conteo molecular de acuerdo a los resultados obtenidos en los pasos anteriores.
5. Se regresa al paso 2 si el tiempo de simulación no ha concluido.

A través del algoritmo de Gillespie se recrea la dinámica probabilística en la ocurrencia de reacciones químicas, dicha aleatoriedad es de naturaleza intrínseca. Como se mencionó el algoritmo funciona si el proceso a modelar se puede abstraer en un conjunto de reacciones químicas y se puede determinar sus respectivas propensiones de ocurrencia para cada reacción.

Tabla 2. Conjunto de reacciones químicas con sus respectivas propensiones.

Número	Reacción	Propensión
1	$P_a \xrightarrow{f(P)ik_a} P_i$	$P_a f(P)ik_a$
2	$P_i \xrightarrow{k_i} P_a$	$P_i k_i$
3	$P_a \xrightarrow{k_{ma}} M$	$P_a k_{ma}$
4	$P_i \xrightarrow{k_{mi}} M$	$P_i k_{mi}$
5	$M \xrightarrow{\gamma_m} \emptyset$	$M \gamma_m$
6	$M \xrightarrow{k_p} P$	$M k_p$
7	$P \xrightarrow{\gamma_p} \emptyset$	$P \gamma_p$

$$f(P)_i = [f(P)_m, f(P)_{sw}] \quad (11)$$

$$f(P)_m = \left(\frac{k_{rp}^{nh} + P^{*nh}}{P^{*nh}} \right) \left(\frac{P^{nh}}{k_{rp}^{nh} + P^{nh}} \right) \quad (12)$$

$$f(P)_{sw} = \left(\frac{P^{nh}}{k_{rp}^{nh} + P^{nh}} \right) \quad (13)$$

El conjunto de reacciones derivadas del proceso de interés –Figura 2- se establecen en la Tabla 2, con sus respectivas propensiones de ocurrencia. De manera global son 6 reacciones ya que las reacciones 3 y 4 producen la misma molécula por lo que la reacción derivada para la producción de mensajeros es la suma de ambas, de la misma forma la propensión total es la suma de las individuales.

Modelado de la Fuente de Ruido Extrínseco

Es necesario modelar una fuente de variación externa debido que a partir del algoritmo de Gillespie representa el efecto del ruido intrínseco únicamente. Cómo ya se mencionó en la introducción, las tasas a las cuales se transcribe (k_{ma}) y traduce (k_p) fluctúan en el tiempo en función de las condiciones del medio. Los parámetros k_{ma} y k_p son tasas de reacción que engloban sub-procesos, de esta forma al variar tales tasas aleatoriamente, se emula la variación del entorno biológico para llevar cabo tales sub-procesos.

Para modelar la fuente de ruido externa se asume que parámetros k_{ma} y k_p fluctúan aleatoriamente en el tiempo a una frecuencia específica. De manera simple, se calcula el valor del parámetro respectivo recursivamente asumiendo que obedecen una distribución de probabilidad log-normal (Shahrezaei, 2008). La distribución de probabilidad log-normal está regida bajo la siguiente ecuación.

$$f(k_i, \mu, \sigma) = \frac{1}{k_i \sigma \sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(\ln(k_i) - \mu)^2}{2\sigma^2}} \tag{14}$$

En donde μ y σ son la media y desviación estándar del logaritmo de la variable k_i ; que a su vez $k_i = [k_{ma} \text{ y } k_p]$. Se desea controlar los rangos de fluctuación de k_{ma} y k_p y para esto, se asocia de manera directa la intensidad de fluctuación y los rangos de variación. A mayor intensidad inducida se espera que el rango de valores en la distribución de probabilidad sea mayor. En la distribución de probabilidad log-normal el parámetro que controla el rango de variación es σ , que se renombro como ϵ_{noise} , con el cual al tener un valor mayor la distribución resultante es más amplia. Con la introducción de ϵ_{noise} es posible controlar la inducción de ruido extrínseco al sistema.

Los valores de las medias para las distribuciones de probabilidad para k_{ma} y k_p son los valores nominales que se muestran en la Tabla 1.

Por otro lado, se mencionó que se recalculan los parámetros de forma recursiva, por lo que se controla el periodo en el un nuevo valor para las tasas se genera bajo el parámetro P_{ext} .

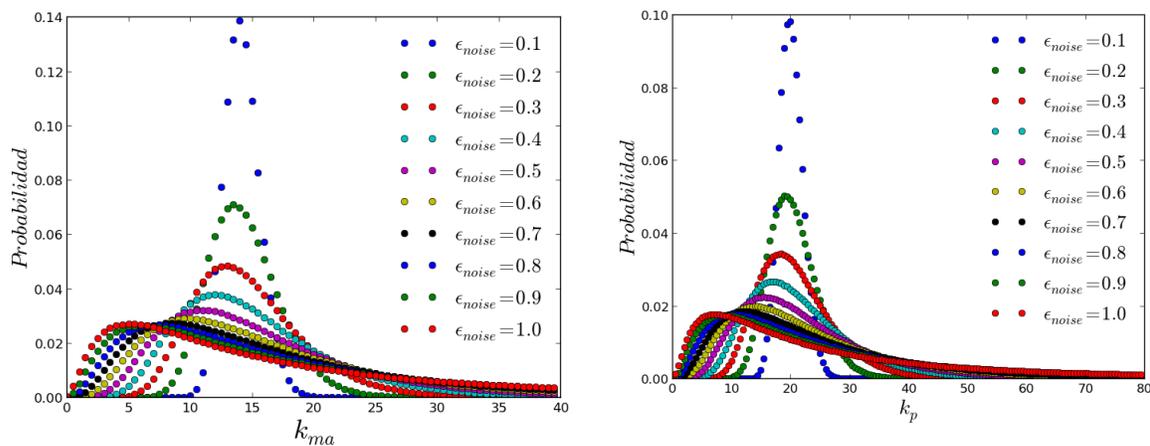


Figura 3: Distribuciones de probabilidad log-normal generadas para determinar la variación de k_{ma} y k_p teniendo como parámetro de variación ϵ_{noise}

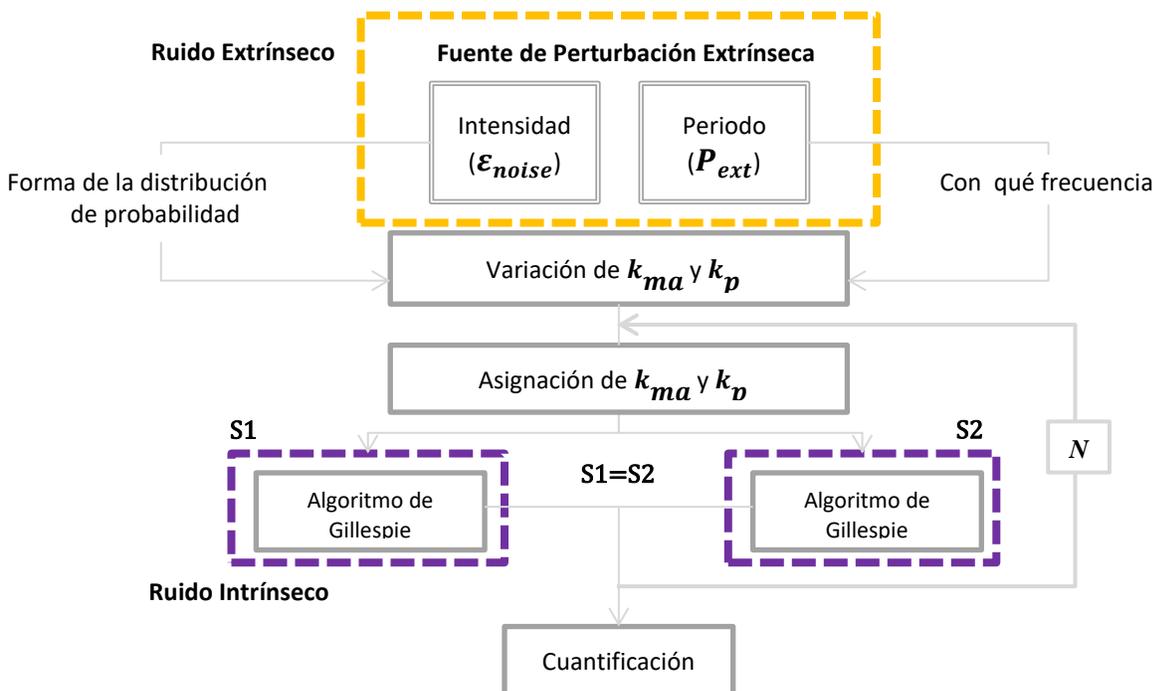
En la Figura 3 se muestra las distribuciones de probabilidad (determinadas por la ecuación (14)) a diferentes valores de intensidad de ruido (ϵ_{noise}) para ambos parámetros. Se observa que al

aumentarse el valor de ϵ_{noise} las distribuciones se ensanchan simulando el efecto de una mayor inducción de ruido.

En resumen, se tiene una fuente que es controlada bajo dos parámetros independientes: ϵ_{noise} controla el rango de variación y P_{ext} la frecuencia con que se genera un nuevo valor dentro del rango de variación.

Algoritmo

Teniendo dos sistemas idénticos pero independientes acoplados en el mismo medio es posible medir el efecto de ambas fuente de ruido. Dada esta concepción, se planteó el siguiente diseño experimental presentado en el diagrama de flujo a continuación. El cual consiste en tener dos sistemas idénticos bajo las mismas condiciones experimentales.



Esquema 1: Planteamiento experimental para ambos sistema

Se modelaron las dos fuentes de ruido, la fuente extrínseca está determinada por dos parámetros de control ϵ_{noise} y P_{ext} , el primero determina la forma de la distribución con la que k_{ma} y k_p varían; el segundo establece la frecuencia con la cual un nuevo valor de las tasas es recalculado. Ya determinada la forma de la distribución y la frecuencia de estímulo, se generaron N ventanas de tiempo del tamaño de P_{ext} el número de ventanas se conserva por lo que el tiempo final de simulación está determinado por:

$$t_f = N * P_{ext}$$

Para cada ventana se calcula un nuevo valor para k_{ma} y k_p respectivamente, esto se hace generando un número aleatorio con la distribución ya determinada. El mismo valor de k_{ma} y k_p se asignan a ambos sistemas siendo paramétricamente idénticos, cada uno de los sistemas se simula de manera independiente por medio del algoritmo de Gillespie; con un tiempo de simulación inicial de $t_i = (i - 1)P_{ext}$ y un tiempo final de $t_f = i * P_{ext}$. En donde i denota el número de iteración. Hasta completar las N ventanas. Para finalizar se cuantificó el ruido.

Cuantificación de Ruido

La intensidad del ruido bioquímico se puede cuantificar dado el conteo de proteínas

$$\eta = \frac{\sqrt{\langle P - \langle P \rangle \rangle^2}}{\langle P \rangle} \quad (16)$$

Denotando $\langle P \rangle$ el promedio de la variable P . Sin embargo, bajo esta determinación se agrupan ambas componentes, extrínseca e intrínseca. Elowitz *et al.* (2002) cuantificó de forma individual ambas componentes de forma que satisfaga que

$$\eta^2 = \eta_{int}^2 + \eta_{ext}^2 \quad (17)$$

Para lograr identificar las componentes de forma independiente Elowitz *et al.* (2002) supuso que existen dos sistemas idénticos, sujetos a la misma fuente de ruido extrínseco. Si el conteo de proteínas de ambos sistemas (P_1 y P_2) es registrado durante un lapso largo de tiempo las distintas componentes se pueden caracterizar de la siguiente forma.

$$\eta_{int}^2 = \frac{\langle (P_1 - P_2)^2 \rangle}{2\langle P_1 \rangle \langle P_2 \rangle} \quad (18)$$

$$\eta_{ext}^2 = \frac{\langle P_1 P_2 \rangle - \langle P_1 \rangle \langle P_2 \rangle}{\langle P_1 \rangle \langle P_2 \rangle} \quad (19)$$

La cuantificación del ruido mide las diferencias estadísticas entre ambos conteo de proteínas, siendo que el η_{int}^2 está relacionado a la covarianza y el η_{ext}^2 mide relación estadística. Pero estos planteamientos están hechos para sistemas monoestables.

Para el sistema biestable, no es posible cuantificar las componentes de esta forma ya que posee dos estados estacionarios y el cambio entre estados por medio de esta cuantificación solo se consideraría como una fluctuación fuera de la media, la cual no estaría en ninguno de los dos estados estacionarios.

Hay que aclarar que η_{ext} y η_{int} miden la cantidad de ruido percibido por los sistemas y ε_{noise} y P_{ext} son parámetros que controlan la inducción de ruido extrínseco (fuente de ruido externa).

Coefficiente de correlación de Pearson

El coeficiente de correlación de Pearson es una medida de la relación lineal entre dos variables aleatorias cuantitativas. Es un índice que puede utilizarse para medir el grado de relación de dos variables (Walpole, 1999).

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (P_{1i} - \bar{P}_1)(P_{2i} - \bar{P}_2)}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (P_{1i} - \bar{P}_1)^2} \sqrt{\sum_{i=1}^n (P_{2i} - \bar{P}_2)^2}} \quad (20)$$

Este índice permite establecer si dos sistemas están sincronizados y si existe efecto debido al ruido. Una característica importante es que es una métrica no paramétrica por lo que no es necesario que las variables se distribuyan normalmente.

Tiempos de encendido y apagado

La caracterización de los tiempos se da en sistemas que presentan al menos dos estados estacionarios estables. El sistema biestable posee tres estados estacionarios dos estables y uno inestable –Ver Apéndice B –, para el presente estudio, el sistema es un switch genético. En el cual existen dos estados estables: de encendido y apagado. Esto hace referencia a que el gen se expresa o no se expresa de acuerdo a las condiciones del entorno.

En el caso particular el estado apagado se refiere a un estado de expresión basal (Karmakar y Bose, 2008) y el estado encendido al estado de expresión máxima.

La forma de establecer cuando el sistema se encuentra en un estado o en otro es a través de la determinación de un umbral, debajo de ese umbral el sistema está en estado apagado y superior a este el estado es encendido. La disposición del umbral se realizó considerando el punto de equilibrio inestable.

Para la caracterización de cualquiera de los dos tiempo se obtuvo la diferencia temporal en la que el sistema cruza el umbral en cualquiera de las dos direcciones. Figura 4

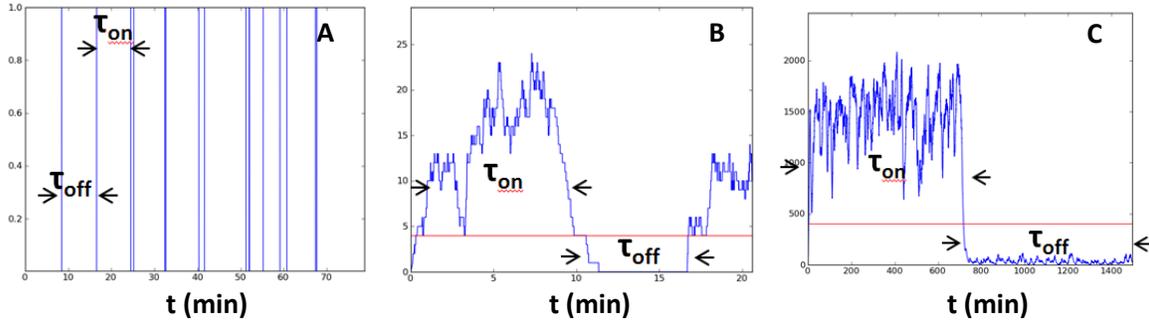


Figura 4: Caracterización de tiempos de encendido y apagado. A promotor. B mensajero. C proteínas

La caracterización se hizo para las tres moléculas de la Figura 2 -promotor, mensajeros y proteínas-, por lo que se tienen seis caracterizaciones. El propósito es observar el efecto sobre tales tiempos en función de la fuente de ruido extrínseca. Para este caso particular el Esquema 1 se vio modificado de tal manera que solo se tenga un solo sistema y no dos.

Efecto de la fuente de ruido extrínseco sobre la distribución en población

Se estudió el efecto sobre la distribución de los dos posibles estados del switch genético en una población homogénea e independiente; este estudio únicamente se realizó para el sistema biestable ya que en el caso monoestable la distribución en población es alrededor de un solo estado estacionario. Para este caso el Esquema 1 se modificó de tal forma que en lugar de tener dos sistemas se tuvieron 1000 sistemas idénticos e independientes bajo las mismas condiciones.

Del mismo modo se hizo variar los parámetros de control de la fuente de ruido extrínseco (P_{ext} y ϵ_{noise}) y se estudió el efecto sobre las distribuciones.

Simulación

La resolución de la formulación determinista fue implementada numéricamente con el algoritmo de Runge-Kutta de quinto orden en el software Python bajo la distribución EPD, el mismo software fue ocupado para realizar el algoritmo planteado en el Esquema 1.

Para la cuantificación de las componentes del ruido y el cálculo del coeficiente de correlación se hicieron tres repeticiones con simulaciones independientes; mostrando valores de tendencia central y desviación.

Resultados y Discusión

Los resultados se presentan en dos secciones, una por cada sistema implementado. A su vez, cada sección se separa por experimento realizado.

Sistema Monoestable

- **Validación determinista**

Para validar nuestras simulaciones estocásticas tomamos como referencia las predicciones del modelo determinista, debido a que la diferencia entre la abstracción determinista y estocástica es representar al sistema como un conjunto de ecuaciones diferenciales o propensiones, pero los términos asociados siguen la misma representación matemática.

Se obtuvo la evolución temporal de los sistemas de regulación génica con regulación: positiva y negativa. El sistema con regulación negativa se obtuvo al hacer $1/f(\bar{P})_m$ en la ecuación (9). Comparando los dos sistemas, Figura 5, se muestra ambos presentan el mismo punto de saturación (estado estacionario) pero el transitorio y la dinámica correspondiente con que llegan a esa saturación son diferentes. Estas dos diferencias son descritas por Orell y Boluri (2004) como características inherentes para ambos sistemas, siendo para un sistema con retroalimentación positiva de forma sigmoidea y más lenta que un sistema con retroalimentación negativa con forma hiperbólica.

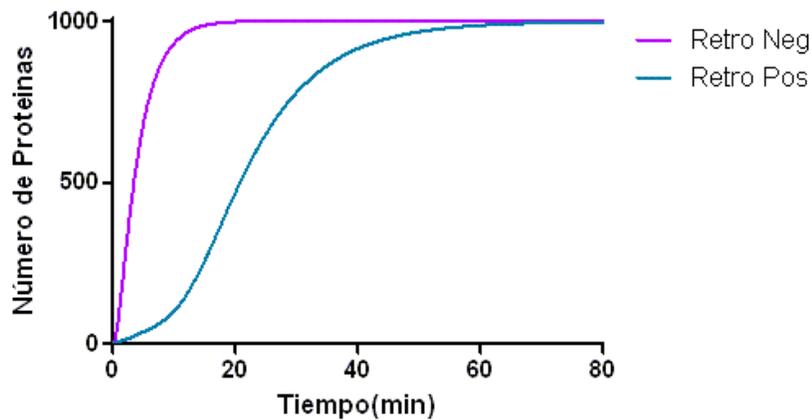


Figura 5: Simulación determinista de dos sistemas, con retroalimentación positiva y negativa.

Se utilizó el cumplimiento de tales características como validación del modelo propuesto, ya que la realización determinista es el trazo promedio del estocástico, (Gillespie, 1987) por lo que se asegura la correspondencia entre una correcta topología de la abstracción biológica y las dinámicas reales.

○ Validación estocástica

Las dinámicas mostradas con anterioridad son resultado del flujo de información genética, el flujo de información presenta fluctuaciones generadas por las distintas etapas de expresión de forma intrínseca (Véase introducción).

Para mostrar la estocasticidad intrínseca se simuló un sistema (establecido por el conjunto de propensiones referidas en la Tabla 2) con el algoritmo de Gillespie. La Figura 6 muestra la evolución temporal de las tres moléculas de interés.

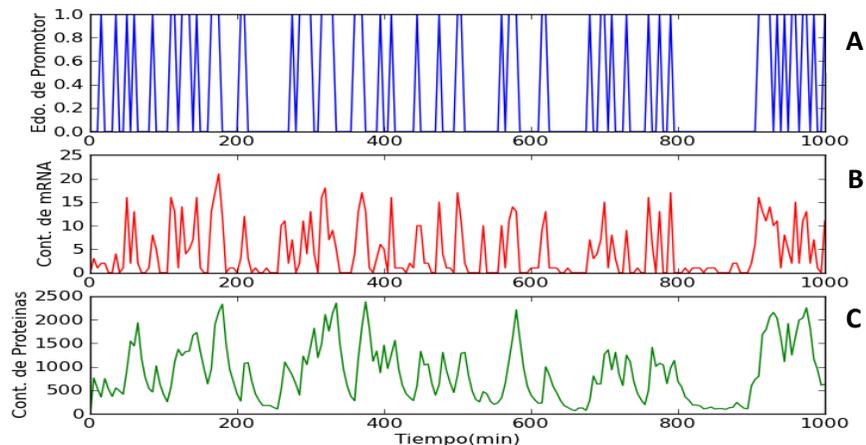


Figura 6: Resultado de la simulación estocástica a través del algoritmo de Gillespie. (A) Estado del promotor vs tiempo. (B) Conteo de mRNA vs tiempo y (C) Conteo de proteínas vs tiempo

En la Figura 6 se manifiesta la existencia de dinámicas fluctuantes, dichas dinámicas a pesar de parecer aleatorias evolucionan hacia un estado estacionario, por lo que la fluctuación es alrededor de un valor promedio (resultado que se aprecia mejor en la dinámica del número de mensajeros y proteínas. Figura 6.B y 6.C). Para los parámetros ocupados (mostrados en la Tabla 2) los valores en estado estacionario son 0.333, 5 y 1000 para el promotor, mRNA y proteínas respectivamente (ver Apéndice A para mayor información).

Para validar los resultados de las simulaciones estocásticas se realizó el experimento anterior 5000 veces y se obtuvo el promedio de ellas, el trazo promedio (μ) se compara con el generado deterministamente (DD) concluyéndose que existe convergencia (Figura 7, estadísticamente no existe diferencia entre las líneas: roja y amarilla). Cumpliendo con la característica sigmoideal descrita para sistemas con retroalimentación positiva. Los intereses generados para el presente proyecto no incluyen el análisis en el transitorio, por lo que se evaluó la respuesta de los diversos sistemas en la fase estacionaria.

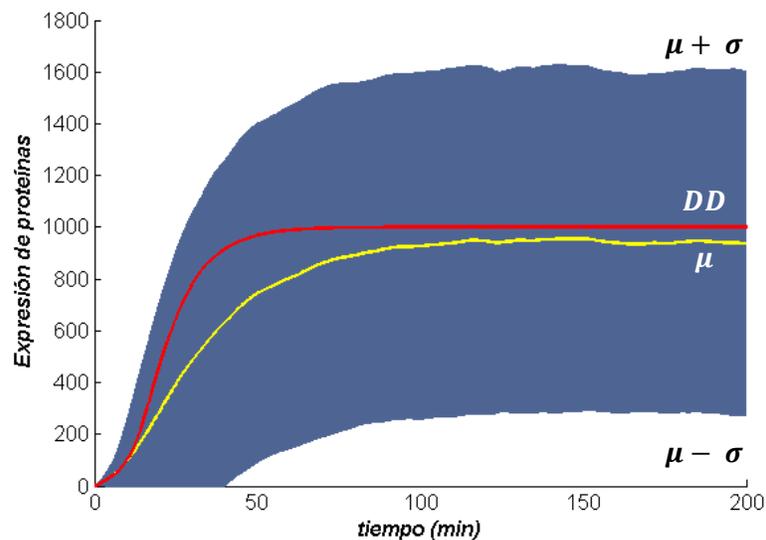


Figura 7: Comparación entre Dinámica estocástica promedio (μ) de 5000 repeticiones (línea amarilla) y la dinámica generada por el modelo determinista (Línea roja, DD). Los extremos del área sombreada representan $\mu \pm \sigma$.

Se comprobó la existencia de aleatoriedad en el sistema pero se sabe la existencia de dos componentes de ruido -intrínseca y extrínseca- (Simpson *et al.* 2009). Para poder atribuir características y efectos sobre el sistema por efecto de cada componente del ruido total es necesario poder separarlas y cuantificarlas. Se simuló la dinámica estocástica de dos sistemas idénticos definidos en la Figura 2 bajo la asunción de que los dos sistemas son independientes y están bajo la misma influencia del ruido extrínseco (Figura 8). Se tomó únicamente la evolución del número de proteínas

ya que en este proceso está contenido el aporte del ruido total, considerándose que este es el proceso último y más lento por lo que cualquier variación en un proceso anterior se ve reflejada en su dinámica.

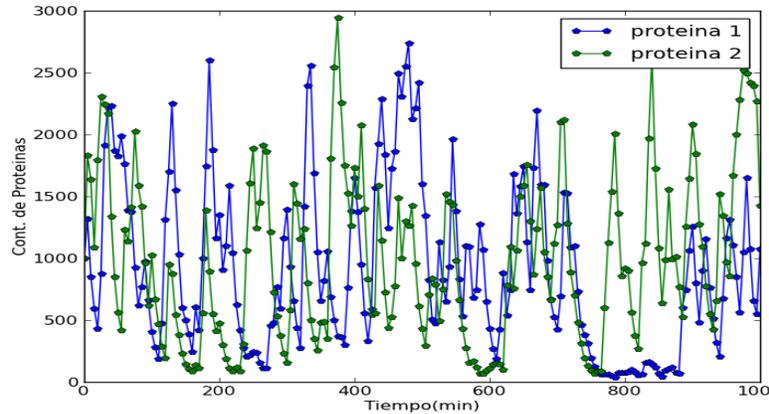


Figura 8: Conteo de proteínas vs tiempo. Resultado de simular numéricamente la dinámica de dos sistemas idénticos. Ambos sistemas están sujetos a las mismas condiciones.

A primera vista se observa que la evolución de los sistemas es independiente entre ellos y a pesar de que fluctúan alrededor de la misma media no existe correlación entre ellos; aunque esto no se puede concluir sólo con la observación.

○ **Análisis de correlación**

Diversos grupos han utilizado los diagramas de dispersión como medida cualitativa de las distintas componentes del ruido bioquímico (Elowitz *et. al*, 2002. Raser y O’Shea, 2004). Estableciendo que el ruido extrínseco correlaciona la expresión de genes y el intrínseco la descorrelaciona; efecto reflejado en los diagramas de dispersión en una alineación a un recta con pendiente unitaria para la componente extrínseca y en dirección perpendicular para la intrínseca. A través de los diagramas de dispersión no es posible cuantificar el grado de descorrelación o correlación que los sistemas tienen entre sí.

El coeficiente de correlación mide el grado de similitud o independencia entre variables. Sigal *et al.* (2006) hace uso tanto del coeficiente de correlación como de diagramas de dispersión; por lo que haciendo uso del coeficiente los resultados se pueden extrapolar a los obtenidos por otros autores a partir de diagramas de dispersión.

Para saber el efecto de la inducción de ruido extrínseco sobre la correlación presentada por dos sistemas se implementó el algoritmo establecido en el Esquema 1, variando la intensidad (ϵ_{noise}) y el

periodo de estimulación (P_{ext}) en un rango de [0,1.0] y [0.5 min, 25.0 min] respectivamente. Los resultados se muestran en la Figura 9.

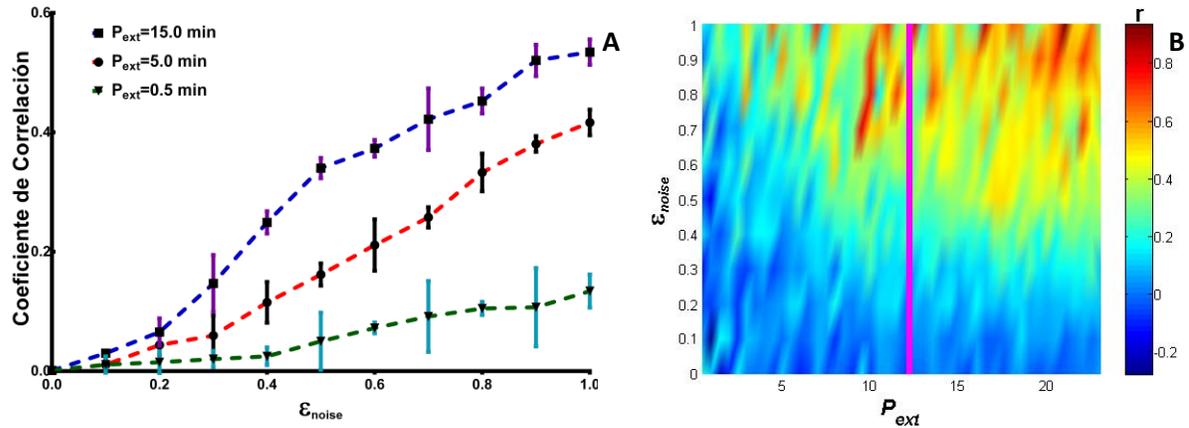


Figura 9: (A) Correlación existente en función de la magnitud de la variación externa a distintos valores de P_{ext} . (B) correlación r medida en función de ϵ_{noise} y P_{ext} .

La Figura 9(A) muestra el efecto de aumentar ϵ_{noise} , el cual corresponde al aumento de la correlación entre los sistemas, lo cual comprueba la sincronización debida a la fuente externa. Además se observa que a mayor valor de P_{ext} la correlación es aún mayor ante un mismo valor de ϵ_{noise} . Esto explica que los sistemas se comporten de manera correlacionada y sean independientes, siendo las condiciones del medio el efector de la sincronización. Este efecto experimentalmente lo observa Elowitz *et al.* (2002), Raser y O'Shea (2004), Sigal *et al.* (2006) y Warmflash y Dinner (2008) en distintos organismos, pero con la característica que son circuitos génicos constitutivos, de igual forma se ha logrado predecir y observar para aquellos que presentan regulación negativa (Shahrezaei *et al.* 2008).

El ruido extrínseco e intrínseco tienen asociada una frecuencia característica en cada una de las componentes, de manera teórica se ha logrado caracterizar el efecto de la variación en frecuencia de la componente extrínseca (Hellström y Rammsayer, 2004 y Cox *et al.* 2006) y como se afecta la contribución al ruido total, pero no existe información de cuál es el efecto en el grado de correlación. Se cree que los sistemas biológicos poseen estados de resonancia, los cuales al ser estimulados a su frecuencia natural deberían de responder de una manera potencializada (Wang *et al.* 2012).

Evaluando el efecto de variar P_{ext} sobre la respuesta del sistema, se encuentra que al ser aumentado, la intensidad necesaria para alcanzar un mismo grado de correlación es menor, Figura 9(B). Por otro lado se obtuvo el tiempo de respuesta del sistema a partir del modelo determinista, el cual es aproximado a doce minutos -en la Figura 9(B) se trazó con una línea púrpura- Se observa que para

periodos mayores al tiempo de respuesta el sistema alcanza un grado máximo de correlación, comportándose como un filtro de correlación pasa bajas con una frecuencia de corte del inverso del tiempo de respuesta. Si la fluctuación extrínseca es de alta frecuencia el sistema al ser lento promedia la fluctuación no produciendo un efecto, recurso que tiene el sistema para compensar la presencia de ruido (Rao *et al.*, 2002). Zhang *et al.* (2012). Además discuten que el tiempo de autocorrelación debe de ser mayor al tiempo de respuesta para que sea necesario considerar el ruido, debido a la promediación. El tiempo de correlación se relaciona a la propagación del ruido sobre el sistema, aunque no hable directamente del periodo del ruido extrínseco, se puede hacer una relación con frecuencia de la fuente extrínseca.

La frecuencia natural del presente sistema es el inverso del tiempo de respuesta; a pesar de estimular con tal valor no se encontró un estado resonante.

○ Cuantificación de η_{ext} y η_{int}

Para saber cuál es el efecto del periodo de estimulación externa sobre las componentes de ruido se realizaron simulaciones variando P_{ext} (Figura 10). Ya que resultados anteriores determinan que es un parámetro importante.

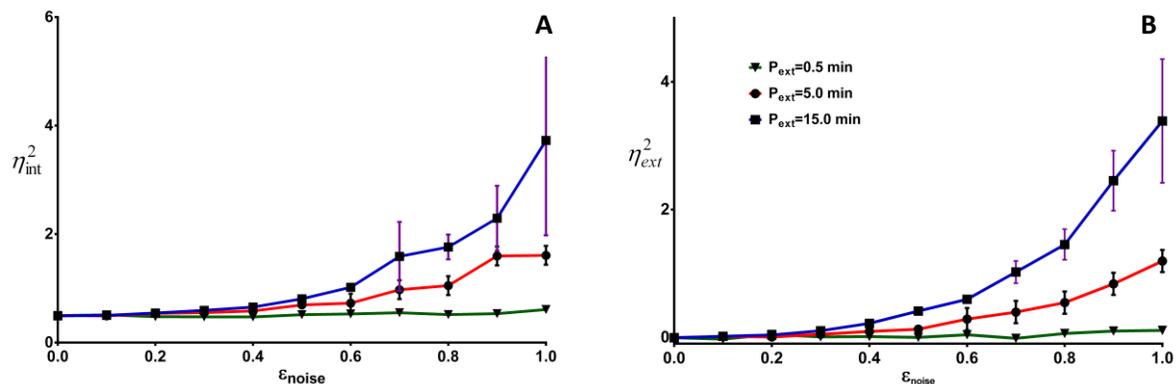


Figura 10: Efecto de P_{ext} sobre las distintas componentes de ruido: A. η_{int} B. η_{ext}

La Figura 10 muestra las distintas componentes de ruido (intrínseca Figura 10(A) y extrínseca Figura 10(B)) en función ϵ_{noise} . Las tendencias para ambas componentes denotan que ambas componentes de ruido tienen una dependencia creciente con ϵ_{noise} , además, se observa que mientras mayor es el periodo de estimulación las componentes tienen valores más altos. Este efecto concuerda con los resultados previos, ya que la cuantificación del ruido está en función de la dependencia estadística de

los dos sistemas al igual que el coeficiente de correlación, por lo que al aumentar P_{ext} esa dependencia aumenta con respecto al coeficiente de correlación, se espera que igual lo haga η_{ext} .

Con respecto a la componente intrínseca, esta incrementa con respecto al aumento de ε_{noise} . Se hace más evidente para valores de P_{ext} mayores por lo que el periodo participa en la correlación de la fuente de ruido extrínseca con η_{int} , aunque sean de naturaleza distinta, este resultado se discutirá en mayor medida más adelante. A mayor periodo, mayor correlación. Pero de igual forma mayor ruido percibido en ambas componentes. Ciertamente, las ventajas del ruido es la correlación (ante periodo e intensidad) aunque el ruido total es mayor, si se considera como único parámetro de control el periodo de la fuente, no se podría tener alta correlación y bajo nivel de ruido.

Se tiene interés en saber cómo la variación de los parámetros afecta cuantitativamente las distintas componentes del ruido. Para cuantificar las componentes se simularon dos sistemas bajo la misma fuente de ruido extrínseco para diferentes valores de ε_{noise} , variando uno por uno los 7 parámetros (descritos en la Figura 1 y en la tabla 1) del sistema un orden de magnitud superior e inferior del valor nominal. La cuantificación se realizó utilizando (3) y (4). El periodo de estimulación externa solo acentúa o atenúa el efecto sobre la cantidad de ruido en el sistema, por lo que el análisis del efecto de los parámetros se realiza a un solo valor de P_{ext} (5.0 min) extrapolando para otros valores de periodos de estimulación.

Para ejemplificar los resultados obtenidos del efecto en el ruido percibido ante la variación de parámetros en la Figura 11, se muestra el efecto de variar la tasa de producción de proteínas (k_p) un orden de magnitud superior e inferior.

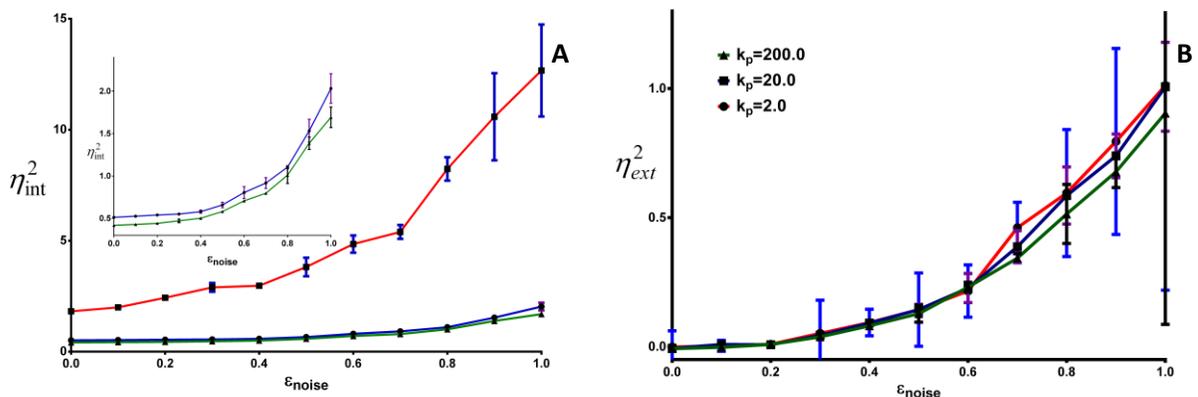


Figura 11: η_{int}^2 (A) y η_{ext}^2 (B) vs. ε_{noise} Para diferentes valores de la tasa de producción de proteínas.

En la Figura 11 se esquematiza el efecto de variar: la intensidad de ruido extrínseco y el valor de k_p sobre la cuantificación de las componentes del ruido. La Figura 11(A) muestra dos tendencias principalmente: la primera muestra el efecto de ϵ_{noise} sobre η_{int}^2 , existe una dependencia creciente entre las dos variables –al aumento de ϵ_{noise} corresponde un incremento del valor de η_{int}^2 -. La segunda, indica que el valor del parámetro de producción de proteínas impacta sobre la cantidad de η_{int}^2 percibido por los sistemas. A tasas mayores menor cantidad de ruido y viceversa. (La figura indexada muestra que los trazos de las tasas mayores son estadísticamente diferentes)

Por otra parte el efecto sobre el η_{ext}^2 - Figura 11(B)- ante el aumento de ϵ_{noise} es creciente, aunque el efecto de variar k_p no afecta la cantidad de ruido percibido.

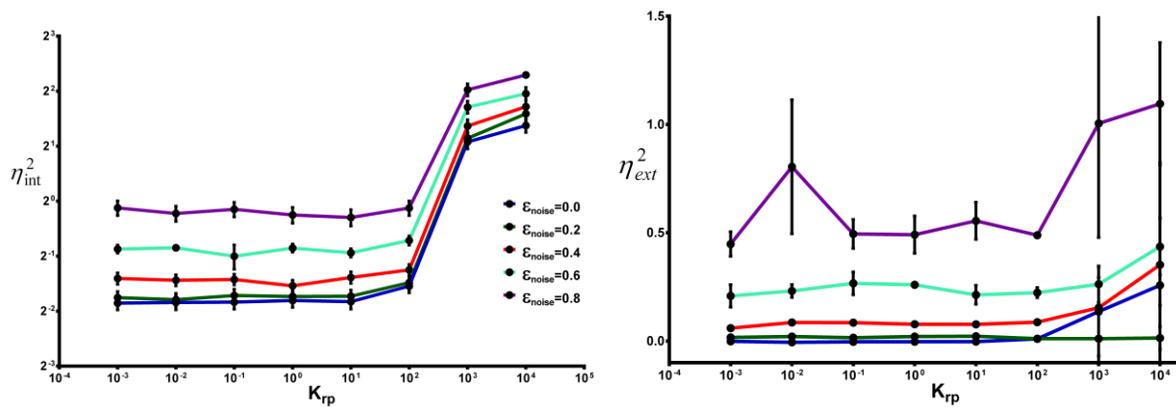


Figura 12: η_{int}^2 (A) y η_{ext}^2 (B) vs. ϵ_{noise} Para diferentes valores de la fuerza de lazo de retroalimentación positiva.

El mismo análisis se realizó para cada parámetro, el resumen de los resultados se muestra en la tabla 3., en la cual se observa el efecto de variar los parámetros sobre η_{int} y η_{ext} ; el símbolo ‘+’ indica que ante el aumento del parámetro existe aumento de la componente del ruido, en el caso de ‘-’ representa que hay una dependencia inversa (ante aumento del parámetro existe un decremento de la cantidad de ruido) y el ‘0’ indica que la variación de parámetros es inocua.

Tabla 3: Relación existente entre η_{nt} y η_{ext} con los parámetros del modelo. El signo ‘+’ y ‘-’ determina que η_{nt} ó η_{ext} aumentan o disminuyen de acuerdo a incrementos del parámetro correspondiente. El ‘0’ denota una correspondencia nula.

Parámetro	η_{int}	η_{ext}
P_{ext}	+	+
ϵ_{noise}	+	+
k_a	-	0
k_{ma}	+	0
γ_m	+	+
k_p	-	0

$$\begin{array}{c|c|c} \gamma_p & + & + \\ nh & 0 & 0 \\ k_{rp} & + & + \end{array}$$

El análisis de los parámetros resalta diversas cuestiones; en primer lugar el aumento de η_{int} en función creciente de ε_{noise} y P_{ext} , estos dos parámetros son propios de la fuente de perturbación extrínseca, las dos componentes del ruido bioquímica (intrínseca y extrínseca) están desacopladas biológicamente de igual forma el modo de modelarlas en el presente trabajo. Se observa que existe correlación positiva entre los parámetros de la fuente de ruido externa (ε_{noise} y P_{ext}) y η_{int} a pesar de ser de naturaleza distinta. Tañase-Nicola *et al.* (2006) establecen distintas reglas y relaciones para considerar si las fuentes extrínseca e intrínseca están correlacionadas, ellos afirman que el proceso en el cual las fuentes diversas se correlacionan es debido a que la molécula final interacciona con la inicial afectándola, efecto que se ve en los lazos de retroalimentación, lo ejemplifican para el caso de retroalimentación negativa, discuten que en el proceso de expresión de genes existe un desacople entre las diferentes fuentes de ruido aunque el esquema que plantean de independencia recae para sistemas con expresión de genes constitutivos. Se comprueba que las fuentes están correlacionadas debido a la presencia del lazo positivo.

En el Apéndice C se muestran los resultados obtenidos para el modelo lineal de expresión de genes constitutivos, al analizar el efecto de la variación de los parámetros se encuentra que no hay acople entre las diferentes fuentes de ruido.

Con respecto al efecto sobre el η_{ext} ante la variación de ε_{noise} y P_{ext} es intuitivo que exista aumento debido a que es la forma de inducir ruido, a mayor inducción por cualquier medio corresponde a un mayor cantidad de ruido extrínseco percibido.

Obteniendo los valores del estado estacionario del modelo se determina su dependencia con el valor de los parámetros, Apéndice A, todo aquel parámetro que al aumentar afecte de manera inversa al conteo de proteínas (Tasas de degradación) afecta crecientemente a η_{int} . De igual forma los parámetros que al incrementar también hagan que el conteo de proteínas aumente provoca una disminución en η_{int} .

La disminución de η_{int} en función del aumento del número promedio de moléculas es un resultado observado en otros sistemas –expresión constitutiva y retroalimentación negativa- y predicho de manera teórica (Elowitz *et al.*, 2002; Paulsson *et al.* 2004; Pedraza y Paulsson, 2008; Kepler y Elston, 2001; Thattai y van Oudenaarden, 2001; Ozbudak *et al.*, 2002; Simpson *et al.*, 2009; Bar-Even *et al.*,

2006; Newman *et al.*, 2006; Shahrezaei *et al.*, 2002 y Rao *et al.*, 2002). Los resultados indican que esta característica se conserva para sistemas con retroalimentación positiva.

De manera interesante, el efecto de aumentar el número de moléculas promedio (vía aumentando la tasa de transcripción de mensajeros) en lugar de provocar una disminución en el η_{int} , produce el efecto contrario, esto se le atribuye a la presencia del lazo de retroalimentación, la razón de esta atribución es que debido a que en sistemas constitutivos (Apéndice C) y regulados con retroalimentación negativa no ocurre este fenómeno (Shahrezaei *et al.*, 2002). No obstante, se sabe que el lazo de retroalimentación positiva provoca un aumento de la variabilidad intrínseca al nivel de la transcripción (Tao, 2004) encontrándose que específicamente el parámetro de control de este efecto es la tasa de transcripción.

El lazo de retroalimentación está controlado por el coeficiente de Hill (nh) y la fuerza del lazo que va en relación inversa a k_{rp} . nh habla del grado de cooperatividad existente, aunque específicamente este parámetro se hizo variar entre uno y cuatro que son los rangos biológicamente plausibles no produce efecto sobre el valor de η_{int} siendo el único que en su variación no está correlacionado con el ruido. Por otro lado la fuerza del lazo afecta inversamente al η_{int} (Figura 12(A)), aunque este efecto encuentra una zona de saturación en donde por más fuerte que se haga el lazo no hay una disminución del ruido. Por otro lado al aumentar la fuerza de lazo el sistema se hace menos sensible, lo cual indica que tiene un tiempo de respuesta mayor –Apéndice A- ante los cambios, esta cualidad puede ser deseable o no dependiendo del medio y objetivo que sistema quiera lograr; si pretende promediar las fluctuaciones ambientales e internas le conviene tener un lazo fuerte y percibir en menor intensidad tal efecto; pero si adaptarse es cuestión de sobrevivencia le conviene tener una fuerza de lazo que le permita responder al estímulo o perecer (Simpson *et al.* 2009). Efecto que se observa en otras estructuras de expresión (Xiao-Jun *et al.* 2009) . Para el caso específico de la fuerza de lazo (k_{rp}) se varió en un rango de $[10^{-3}, 10^4]$

Pasando de lleno al efecto de los parámetros sobre η_{ext} se encuentra que: dentro de los parámetros que lo afectan están los asociados a la fuente de ruido extrínseca, aunque este resultado se considera intuitivo ya que al aumentar la inducción se aumenta la percepción, por otro lado la fuerza del lazo afecta, de manera que a lazos fuertes menor cantidad de ruido percibido, este resultado lo discute Yao, (2004) de forma analítica determinando esta dependencia, propiedad que es buscada en un sistema con regulación.

La retroalimentación positiva no surge como sistema de regulación recurrente para sistemas de expresión pequeños. Una posibilidad es que el diseño de la retroalimentación adecuada que mantenga la estabilidad al tiempo que proporciona amortiguación de ruido es evolutivamente difícil para las redes de tamaño pequeños (Prill *et al.*, 2005), debido a la exigencia que impone a la medida de no linealidad (coeficientes de Hill) de las interacciones. Sin embargo, puede ser implementado fácilmente por las redes más grandes (Hornung y Barkai, 2008).

Existe una relación directa entre las tasas de degradación y la cantidad de ruido extrínseco percibido, a degradaciones lentas menor cantidad de ruido percibido, esto resalta en importancia debido a que estos parámetros no influyen en la regulación de la expresión pero a través de ellos es posible atenuar el ruido extrínseco percibido. Rizk *et al.* (2009), en un estudio de robustez en un sistema con retroalimentación positiva con aplicación a la biología sintética, encontraron que las tasas de degradación en general son los parámetros que le otorgan la capacidad de robustez o sensibilidad al sistema, haciendo relación a la importancia al efecto que produce la variación de las tasas de degradación. Así mismo Ozbudak *et al.* (2002) determinaron que los parámetros a los cuales el ruido extrínseco se veía más sensible son los relacionados a los de la traducción. La tasa de degradación de proteínas tiene un efecto mayor al atenuar el ruido extrínseco que la respectiva de traducción, encontrado correspondencia con lo encontrado por Ozbudak *et al.* (2002) aunque se encontró que particularmente es la tasa de degradación.

Se sabe que en diversos circuitos génicos la mayor contribución al ruido total es a través de la componente intrínseca (Singh *et al.*, 2010; Kar, 2009). Este efecto se verifica en el presente estudio y no solo eso sino que además se establece que el efecto mayor está asociado a las tasas de degradación, particularmente a la de las proteínas, efecto que se presume que se debe al ser la menor.

Sistema biestable

○ Validación determinista

Un sistema biestable, se caracteriza por tener dos estados estacionarios estables, la dinámica del sistema tiende hacia cualquier estado dependiendo de la condición inicial, por lo que es necesario comprobar que el sistema propuesto cumpla con tales características. Haciendo uso de la aproximación determinista, ecuaciones (5)-(10), se obtienen las curvas con pendiente nula (“nullclines”) suponiendo que la dinámica descrita por los mensajeros es cuasiestacionaria debido a son moléculas lábiles (para mayor descripción véase Apéndice B)

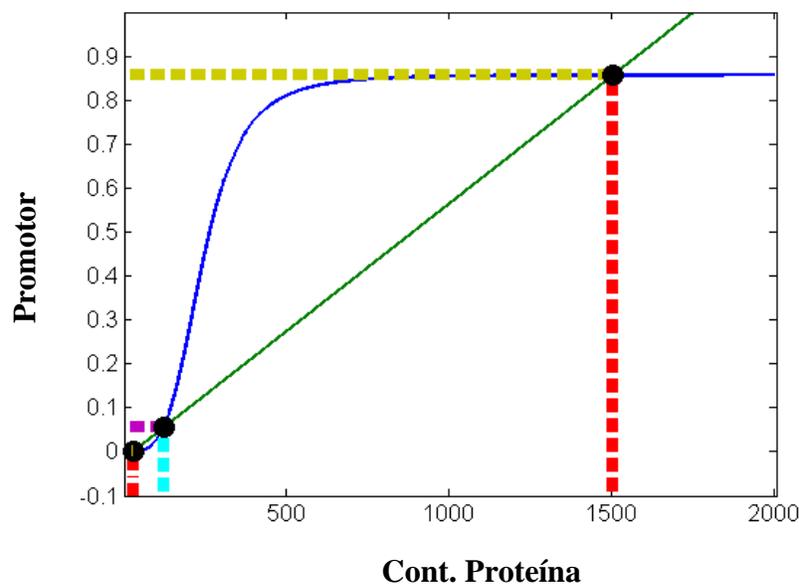


Figura 13: Curvas de ecuaciones con pendiente nula para el promotor (línea azul) y proteínas (línea verde). Las intersecciones están marcadas con puntos negros y el valor respectivo para los ejes esta marcado con líneas discontinuas. Las Líneas rojas y amarillas corresponden a los valores de estacionario estables. Las líneas azul claro y magenta corresponden a los valores del estado estacionario inestable.

En la Figura 13 se observa el conteo de las proteínas en función del estado del promotor, los puntos de intersección (puntos negros) entre las dos curvas denotan los valores de estado estacionario de ambas especies. Se aprecia dos estados estacionarios estables separados por uno inestable. Los valores de los parámetros son los establecidos en la Tabla 1. Smits *et al.* (2006) y Raser & O’Shea (2005) utilizan este tipo de aproximación para indicar la biestabilidad de un sistema.

La biestabilidad del sistema depende directamente del valor de los parámetros, por lo que para la obtención de los resultados siguientes se aseguró que siempre se estuviera en la zona de

biestabilidad, buscando las tres intersecciones de las “nullclines”. Incluso para aquella variación que produce la fuente de ruido extrínseca.

○ Validación Estocástica

La biestabilidad es una propiedad de sistemas deterministas, para sistemas estocásticos no es aplicable este concepto, por ello se emplea el término de bimodalidad. Cómo lo indica el nombre posee dos modas, por lo que es una distribución en la cual existen dos máximos locales.

Para comprobar si el sistema fluctúa entre dos estados estacionarios estables se simuló el sistema descrito en la Figura 2, únicamente con la componente de ruido intrínseca. Los resultados de las simulaciones se muestran en la Figura 14, en la cual se tienen la evolución temporal de las moléculas de interés: estado del promotor, conteo de mensajeros y proteínas. El estado estacionario obtenido se muestra en líneas de color negro para las diversas especies químicas.

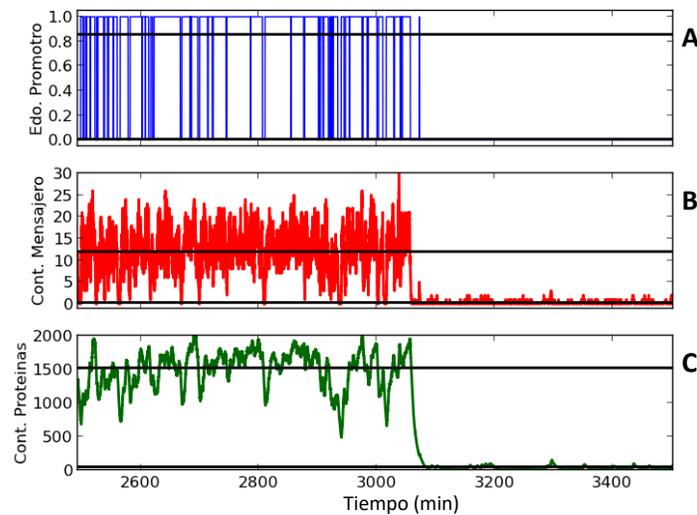


Figura 14: Resultados de la simulación. A. Estado del promotor, B. Conteo de mensajeros y C. Conteo de proteínas

Se observa que el sistema cambia de estado en función de su aleatoriedad inherente; en la expresión de genes puede existir estabilidad en múltiples estados, dictaminando heterogeneidad fenotípica incluso en células clonas. (Choi, 2010), dicha expresión juega un papel importante en la diferenciación en organismos multicelulares (Raser & O’Shea, 2005) y otorga ventajas competitivas ante un medio fluctuante (Simpson, 2009). La presencia de estocasticidad en el sistema hace que se dé un salto entre los dos estados posibles. Intrínsecamente el sistema puede expresar los dos estados estacionarios (Mettetal *et al.*, 2006; Hammar *et al.*, 2007 y Choi *et al.*, 2008).

○ **Caracterización de t_{off} y t_{on}**

La alternancia entre los diferentes estados se debe a las uniones fluctuantes de diversas moléculas (RNA polimerasa) de manera intrínseca; extrínsecamente es originada por la variación en los parámetros y ruido térmico (Choi *et al.*, 2009).

Esta transición entre estados es caracterizada mediante la cuantificación de la frecuencia de cambio de estado; se simuló un sistema bajo el Esquema 1, durante un tiempo de 2×10^5 minutos y se cuantificaron los tiempos que el sistema pasaba en cualquiera de los dos estados, ya cuantificados se realizó el histograma respectivo (Véase metodología).

Para saber cuál es el efecto de la fuente de ruido extrínseca sobre la alternancia, primero se necesitó caracterizar los tiempos t_{off} y t_{on} , bajo la influencia externa nula.

Se sabe que t_{off} y t_{on} son aleatorios e independientes (Zhang *et al.* 2013). Al ser variables aleatorias siguen una distribución de probabilidad. En la Figura 15 se observa la caracterización de la distribución de probabilidad para t_{on} para el caso del promotor. Tal caracterización ejemplifica las realizadas para cada tiempo y para especie química.

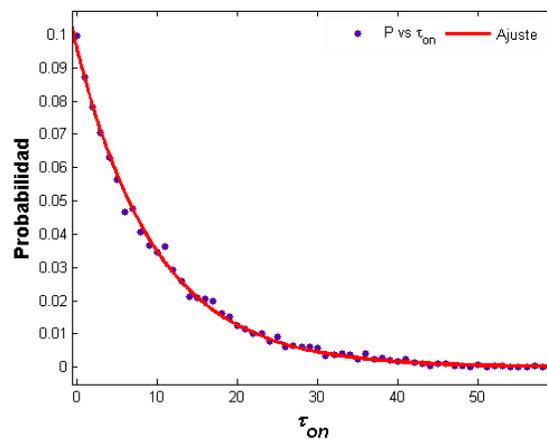


Figura 15: Caracterización de la distribución de los tiempos de encendido para el promotor; el ajuste realizado es una ecuación exponencial decreciente sencilla.

Una vez establecida la distribución de los diferentes tiempos se ajustó a una distribución de probabilidad exponencial doble monótonamente decreciente para el caso de los tiempos asociados al cambio de estado de los números de proteínas y mensajeros. Para el caso particular del promotor se ajustó a una exponencial sencilla. El ajuste se realizó bajo las ecuaciones siguientes.

$$P(t_i) = Ae^{-t_i f_1} \quad (20)$$

$$P(t_i) = Ae^{-t_i f_1} + Be^{-t_i f_2} \quad (21)$$

Para el caso del ajuste a una exponencial doble se justifica bajo el hecho de que el ajuste a una exponencial sencilla presentaba un valor de correlación alto (0.998) pero visualmente la doble recreaba de mejor manera la distribución. Por otro lado la distribución exponencial tiene la propiedad de no tener memoria por lo que la distribución de eventos están descorrelacionados además esta propiedad hace referencia a un proceso de Markov, por definición el algoritmo de Gillespie (Gillespie, 1977) parte que los eventos de ocurrencia son markovianos, lo cual justifica la distribución exponencial.

Choi *et al.* (2009), Mehta *et al.* (2008) y Assaf *et al.* (2013) determinan que los tiempos de transición, de igual manera que en el presente estudio, siguen una distribución exponencial, además que son aleatorios (Becskei *et al.*, 2001).

De las ecuaciones (20) y (21) se caracterizó el parámetro f_i el cual determina la frecuencia de transición promedio, el tiempo de transición (τ_i) va como su inverso. En la tabla 4 se observan los tiempos para cada especie química en unidades de minutos.

Tabla 4: Tiempos de encendido (t_{on}) y apagado (t_{off}) para cada especie química.

	Promotor		Mensajero		Proteínas	
	t_{off}	t_{on}	t_{off}	t_{on}	t_{off}	t_{on}
τ_1	1.6782	9.9607	0.2379	0.2643	0.0422	10.5118
τ_2	-	-	2.2189	14.8610	4.6514	119.4011

Al tener el periodo natural de alternancia se explora la existencia de estados de resonancia para el sistema biestable, por lo que obtención de los tiempos sirvió como referencia para obtener el rango de variación para el parámetro P_{ext} el cual es de [0.5, 15.0] min, y observar el efecto de variar el periodo de estimulación pasando por los tiempos naturales del sistema. La razón que el periodo no se extendió hasta 120.00 min fue debido a las limitaciones computacionales que conlleva este tipo de análisis.

Para conocer el efecto de la fuente de ruido extrínseca sobre las distribuciones de t_{off} y t_{on} se simuló un sistema un tiempo de 2×10^5 minutos y realizó la caracterización ante variaciones de los dos parámetros de la fuente de ruido extrínseca.

Para ejemplificar los resultados obtenidos en los tiempos de transición entre los estados ante la variación ε_{noise} y P_{ext} , en la Figura 16 se muestra la variación de la distribución de probabilidad ante

el aumento de la intensidad de ruido extrínseco ($P_{ext} = 1.0$). La caracterización mostrada es para los tiempos de los mensajeros.

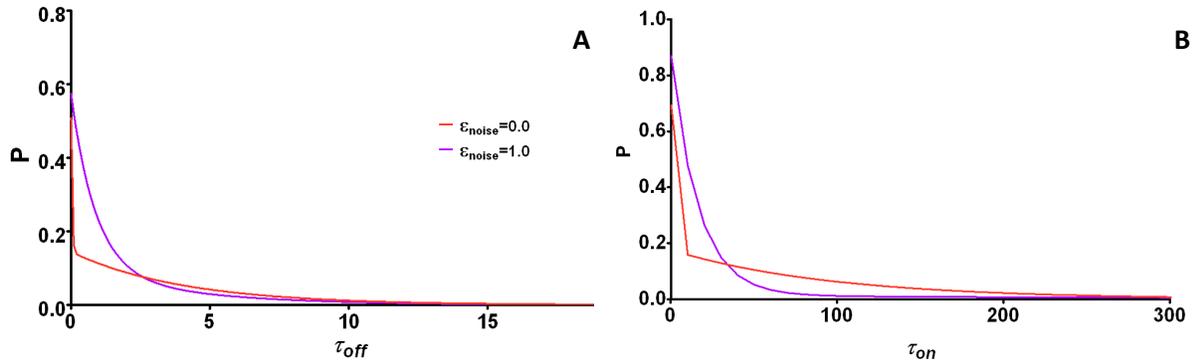


Figura 16: Distribuciones de probabilidad asociadas a la alternancia entre dos diferentes estados estables (A. τ_{off} y B. τ_{on}) Ante la presencia de diferentes intensidades de inducción de ruido. $\epsilon_{noise} = 0.0$ trazo rojo y $\epsilon_{noise} = 1.0$ trazo violeta.

Si se toma el trazo rojo de la Figura 16(A) se observa que en cada una de las exponenciales del ajuste (determinado por la ecuación 21) tiene diferentes tiempos de decaimiento, lo que implica que cada exponencial domine a tiempos diferentes. La exponencial con tiempo de decaimiento menor dominara mientras el sistema tiende a infinito y la componente rápida a tiempos cercanos a cero. Por lo que la distribución de tiempos de cambio de estado tiene una componente rápida (C_{fast}) y otra lenta (C_{slow}). Tales componentes se ven modificadas ante el aumento de ϵ_{noise} (trazo violeta). Los resultados no permiten establecer la forma en que las componentes se ven modificadas, al parecer con el aumento de ϵ_{noise} una componente se pierde. Las mismas tendencias se observan para las distribuciones de τ_{on} .

De acuerdo a lo planteado anteriormente $P(t_i) = C_{fast} + C_{slow}$ y lo establecido en (21) $C_{fast} = Ae^{-t_i/\tau_1}$ y $C_{slow} = Be^{-t_i/\tau_2}$ en donde $A > B$ y $\tau_2 > \tau_1$. Se determina que las diversas componentes están en función de los parámetros de ajuste, por lo que analizándolos se puede saber el efecto sobre las componentes.

Analizando el efecto sobre los parámetros de ajuste ante la fuente de ruido extrínseca se determina el efecto sobre la distribución de los diversos tiempos de cambio de estado. El resumen de los resultados se muestra en la Tabla 5. El símbolo '+' indica que ante el aumento del parámetro de la fuente existe aumento del valor del parámetro de ajuste, en el caso de '-' representa que hay una dependencia inversa y el '0' indica que la variación de parámetros es inocua.

Para clarificar los efecto sobre la variación en los parámetros de ajuste, Figura 17, se graficaron curvas que siguen una función exponencial decreciente ($y = Ae^{-t/\tau}$), y se variaron los dos parámetros (A y τ) Al variar A únicamente se mueve el punto de inicio de donde la función decrece y al variar τ la razón a la cual lo hace.

Si se analiza el caso del ajuste para el promotor (Tabla 5.A), no se ven efecto de la variación extrínseca sobre los tiempos caracterizados. Por lo que la variación de estado del promotor únicamente depende de la cantidad de ruido intrínseco percibido. Por otro lado no existe propagación del ruido extrínseco a través del lazo de retroalimentación. Los resultados obtenidos concuerdan con lo expresado por Newby (2012), el cual considera que una de las fuentes del cambio de estado rio abajo es aleatoriedad generada por el cambio de estado de promotor, lo cual conlleva a una propagación de ruido, por lo que extrínsecamente no hay efecto sobre el promotor.

Tabla 5 : Efecto sobre los parámetros de ajuste determinados por (21) ante la inducción de ruido externo. A. Promotor, B. Mensajeros y C. Proteínas

τ_{on}					A. Promotor					τ_{off}				
Parámetro	Pext	Efecto	Enoise	Efecto	Parámetro	Pext	Efecto	Enoise	Efecto	Parámetro	Pext	Efecto	Enoise	Efecto
A	+	0	+	0	A	+	0	+	0	T	+	0	+	0
τ	+	0	+	0	T	+	0	+	0					

τ_{on}					B. Mensajeros					τ_{off}				
Parámetro	Pext	Efecto	Enoise	Efecto	Parámetro	Pext	Efecto	Enoise	Efecto	Parámetro	Pext	Efecto	Enoise	Efecto
A	+	+	+	+	A	+	-	+	-	A	+	+	+	+
τ_1	+	+	+	+	τ_1	+	+	+	+	τ_1	+	+	+	+
B	+	+	+	+	B	+	-	+	-	B	+	-	+	-
τ_2	+	-	+	-	τ_2	+	+	+	+	τ_2	+	+	+	+

τ_{on}					C. Proteínas					τ_{off}				
Parámetro	Pext	Efecto	Enoise	Efecto	Parámetro	Pext	Efecto	Enoise	Efecto	Parámetro	Pext	Efecto	Enoise	Efecto
A	+	+	+	+	A	+	+	+	+	A	+	+	+	+
τ_1	+	+	+	+	τ_1	+	+	+	+	τ_1	+	+	+	+
B	+	+	+	+	B	+	-	+	-	B	+	-	+	-
τ_2	+	-	+	-	τ_2	+	+	+	+	τ_2	+	+	+	+

Estudiando los tiempos en los mensajeros (Tabla 5.B) se observa que: las amplitudes de ambas exponenciales son sensibles a cualquiera de los dos parámetros de la fuente de ruido extrínseco y además son complementarias con respecto a su τ_i contrario, en otras palabras, la amplitud de C_{fast} (A) de τ_{on} aumenta con respecto a ε_{noise} y a P_{ext} a su vez, la amplitud para τ_{off} disminuye, resultado que se repite para B. Sin influencia de ruido externo el sistema pasa más tiempo en estado encendido ($t_{on} > t_{off}$, Tabla 4) la presencia de ruido aumenta la probabilidad de que el sistema permanezca en estado máximo de producción de mensajeros, lo cual no altera su condición ante ruido intrínseco únicamente.

Observando τ_1 y τ_2 para τ_{off} , existe una dependencia creciente ante el aumento de la intensidad y periodo de la fuente de ruido externa. Para τ_{on} , τ_1 se comporta igual que su respectivo para τ_{off} ; en el caso de τ_2 lo hace de manera contraria indicando que ante el efecto de la perturbación externa disminuye.

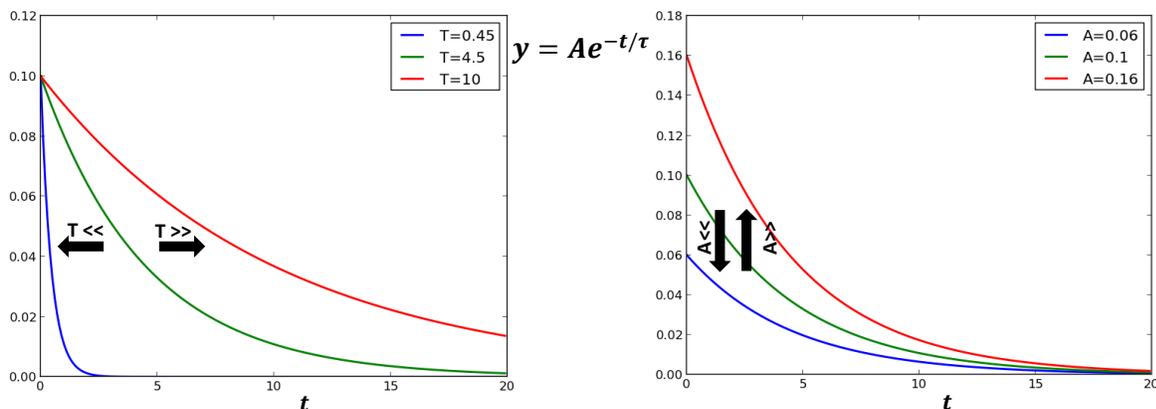


Figura 17: Efecto sobre la dinámica de $y = Ae^{-t/\tau}$ ante la variación de: $\tau = [0.45, 4.5, 10]$ y $A = [0.06, 0.1, 0.16]$

Los resultados indican que ante el aumento de la intensidad de la fuente de ruido C_{fast} cada vez se hace más lenta al hacer que τ_1 aumente y C_{slow} se acelera por efecto de la disminución de τ_2 . Por otro lado, debido a que el parámetro B disminuye y el parámetro A crece por efecto del aumento de la intensidad de la fuente de ruido, lo que produce que el aporte debido a C_{slow} sea menor, dejando el mayor aporte a C_{fast} pudiéndose explicar el efecto total con el ajuste de una sola exponencial. El efecto descrito es el mismo ya sea para τ_{off} , efecto que se ve reflejado en la Figura 16(A). Para el caso de τ_{on} , C_{fast} domina la dinámica de manera global ante el aumento de la estimulación externa pero debido a efectos diferentes: τ_1 aumenta al igual que lo hace A, por lo que C_{fast} se hace más dominante, ante el aumento de ε_{noise} y P_{ext} . El parámetro de ajuste B aumenta pero existe una

disminución de τ_2 produciendo un decremento mayor de C_{slow} dejando el aporte a la componente rápida, Figura 16(B).

La distribución de los tiempos para el caso de las proteínas, Tabla 5.C, indica lo siguiente. Comparando τ_1 y τ_2 para los tiempos de encendido y apagado que el sistema prefiere estar en estado bajo de expresión ante el aumento de la perturbación extrínseca, este resultado se refuerza al observar A y B para ambos tiempos que se comportan de manera idéntica ante el aumento de la estimulación externa. Jaruszewicza (2010) establece que este fenómeno es típico para procariontas; el valor de los parámetros es característico para procariontas por lo que el resultado concuerda, dándoles una explicación con base a los tiempos de alternancia. Sin la existencia de ruido externo las proteínas pasan mayor tiempo en estado encendido por lo que la alternancia óptima se favorece al estado de máxima expresión (Fudenberf y Imhof, 2012) pero ante la presencia de la estimulación externa la dirección del valor de alternancia óptima favoreciéndose al estado mínimo de expresión. Mediante la inducción se puede favorecer la dirección de expresión dominante visto como medio de control celular.

En los tiempos para las proteínas, se determinó que para τ_{off} , C_{fast} al aumentar su tiempo de decaimiento e incrementar su amplitud domina la distribución. C_{slow} , sin importar que su contraparte rápida decaiga en mayor tiempo su amplitud se hace menor haciendo que el aporte tienda a cero por efecto de la fuente de ruido externa. Para el caso de τ_{on} , la componente rápida domina pero sólo por efecto del aumento en su amplitud, ya que el ruido inducido provoca que decaiga en menor tiempo, al mismo tiempo hace que la amplitud de la componente lenta disminuya a pesar de su tiempo de decaimiento disminuya, la dominancia de C_{fast} sobre C_{slow} dependerá en ese caso de que tan mayor sea A con respecto a B.

El aumento del periodo de estimulación externa afecta en menor proporción. Se observa su influencia pero al parecer el sistema biestable es robusto a los presentes periodos de estimulación mitigando su efecto, el cual es observado en los tiempos de mensajeros y proteínas.

Se plantea la siguiente explicación ante el dominio de la componente rápida para los diversos tiempos de cambio de estado tanto para proteínas como para mensajeros. Planteando la expresión fenotípica como un perfil de decisión, Figura 18. La línea gris denota el perfil de expresión determinado por dos mínimos locales (representando los dos estados estables) y una meseta entre ambos (estado estacionario inestable). Existe un conjunto de decisiones (flechas) que provoca que el sistema (círculo azul) puesto en la meseta elija por cualquiera de los dos posibles caminos. De los resultados anteriores

se muestra que existen dos componentes (una rápida y otra lenta) que determinan el cambio de estado del sistema y el tiempo que pasa en cada uno de ellos. Determinados los puntos B y B' en el fondo de ambos valles, y los puntos A y A' en algún punto cuesta arriba rumbo a la meseta.

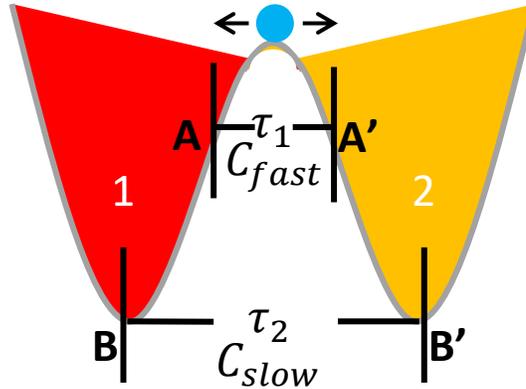


Figura 18: Perfil fenotípico propuesto.

El tiempo que tarda en llegar el sistema del punto B a B' es mayor comparado que le lleva pasar de A a A', por lo que a la primera y segunda transición se le asocian los tiempos de τ_2 y τ_1 respectivamente (característicos de C_{slow} y C_{fast}). Ante bajo o nulo ruido inducido externamente, el sistema presenta ambas componentes pero con una marcada tendencia a mantener al sistema entre los puntos A y A'. El ruido intrínseco se caracteriza por tener un frecuencia rápida por lo que mantiene al sistema en un estado aparente de transición cercano al límite entre los dos valles. Tal efecto se va mitigando al aumentar la inducción de ruido externamente por lo los puntos A y A' tienden a acercarse a B y B'; logrando que τ_1 aumente, con la consecuencia que C_{slow} desaparece. Este efecto otorga estabilidad al sistema entre los cambios de estados, haciendo que el sistema invierta mayor tiempo en cualquiera de los estados. Al pasar mayor tiempo en un estado el sistema tiene mayor capacidad para adaptarse al medio.

Mantegna *et al.* (1996) y Dubkov *et al.* (2004) establecen que el ruido potencializa la estabilidad en un sistema fluctuante. Esta afirmación es cierta bajo los resultados anteriores, en la cual el ruido extrínseco amortigua las componentes intrínsecas que le hacen mantener una dinámica inestable, esto como resultado de la adaptación óptima para obtener beneficios del ruido.

Choi *et al.* (2009), menciona que como resultante de mecanismos moleculares como: transcripción, traducción, o regulación debida a factores de transcripción considerados como fuentes de ruido extrínseco; tienen efecto sobre la frecuencia y robustez del cambio de estado estocásticamente. Específicamente las fluctuaciones del número de proteínas cambian las propiedades de alternancia

de estado, en el presente estudio no se puede ver tal efecto pero se puede establecer que una fluctuación de proteínas de alta frecuencia puede mantener al sistema en un pseudo-estado estacionario altamente ruidoso. Al mismo tiempo que por efecto del ruido extrínseco puede dominar la alternancia, lo cual concuerda con los resultados obtenidos. La forma que lo hace es filtrando las componentes de alta frecuencia. Obteniendo que las fluctuaciones en el medio determinan las transiciones, por lo que los tiempos invertidos en cada estado dependen directamente del medio.

○ Estudio en población

A pesar de que existan dos estados posibles para una célula, no se sabe el modo en que se expresan en población tales estados, y si la distribución en los estados se ven modificados por influencia de la fuente de ruido extrínseca antes sus dos parámetros de control.

Para tal fin se simularon 1000 sistemas independientes bajo la misma influencia extrínseca y observar el efecto de la inducción de ruido en el sistema. Se continúan trabajando con los mismos rangos de ε_{noise} y P_{ext} . Se registra el estado de los 1000 sistemas en intervalos de 100 minutos; en cada intervalo se realiza el respectivo histograma del conteo molecular. En la Figura 19, se muestra la evolución temporal en población para la producción de proteínas y mensajeros. Ambas evoluciones de las distribuciones no tienen ruido extrínseco inducido.

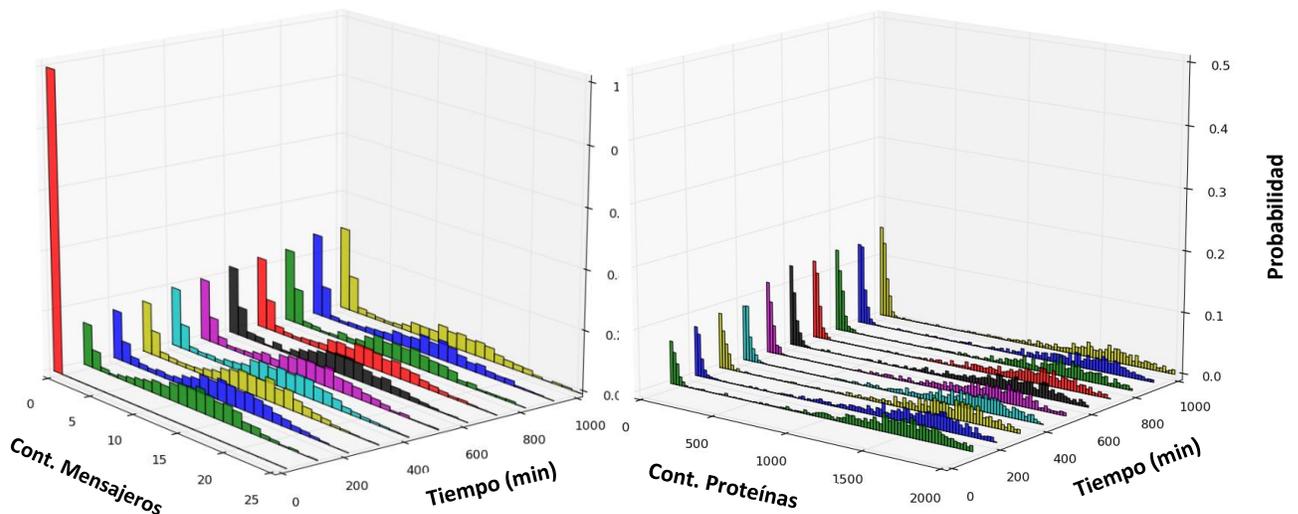


Figura 19: Cambio de las distribuciones bimodales de probabilidad en función del tiempo para mensajeros y proteínas con parámetros de la fuente externa de: $P_{ext} = 7.0 \text{ min}$ y $\varepsilon_{noise} = 0.4$.

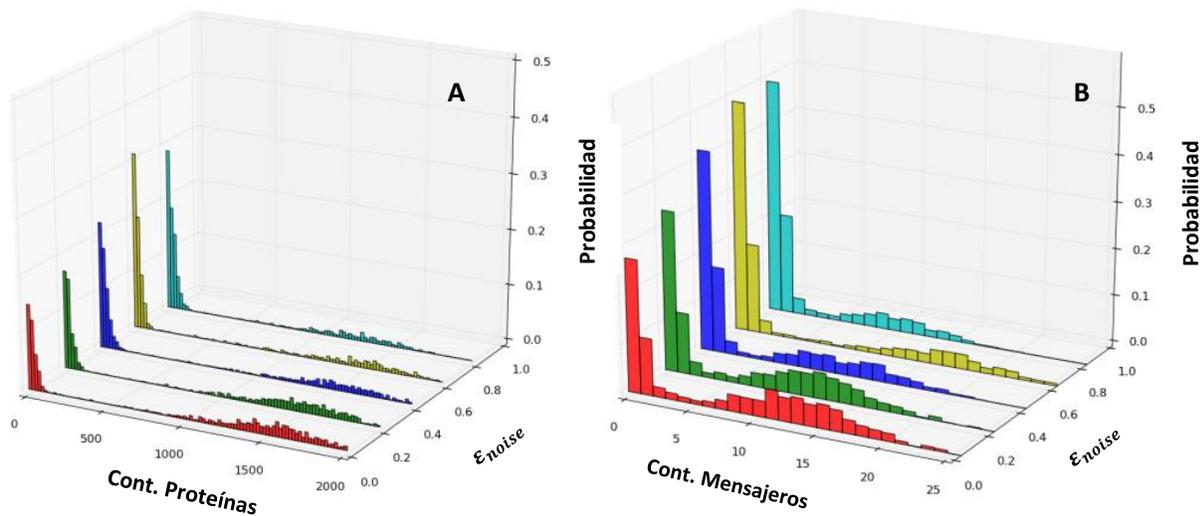
Se observa que la bimodalidad se hace presente en población y evoluciona en el tiempo hasta alcanzar su distribución de probabilidad estacionaria (estas distribuciones se muestran tanto en procariotas (DePas *et al.* 2012), como en eucariotas, (Blake *et al.*, 2003); por otro lado el estado bajo tiene un

distribución más angosta, lo que indica que la variabilidad asociada a este estado es menor, por lo que el sistema es más susceptible al ruido en el estado alto.

Induciendo variabilidad extrínseca al sistema se pretende saber el efecto sobre las distribuciones bimodales. Se consideró que al tiempo 1000.00 minutos las distribuciones ya estaban en estado estacionario, indicando que son temporalmente invariantes. Como ya se ha descrito, la inducción de ruido externa presenta dos componentes, por lo que se estudió el cambio de las distribuciones ante la influencia del ruido extrínseco.

La emulación de tener 1000 sistemas idénticos hace analogía a tener una población genéticamente idéntica. La Figura 20 denota el efecto aumentar ϵ_{noise} en una población, resultando que la inducción de ruido favorece el estado bajo, independientemente de la especie química. Este efecto se ve más drásticamente en las proteínas.

Se observó que el promotor no se ve afectado en su tiempo de cambio de estado (resultado anterior) ante el η_{ext} pero que aumente o disminuya el tiempo no indica que la distribución o la predilección hacia alguno de los estados se conserve. Con el aumento de la intensidad de ruido la población prefiere mantener el estado del promotor apagado.



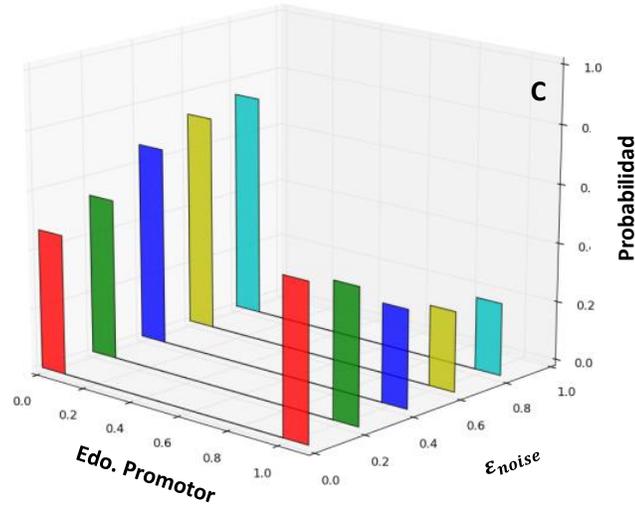


Figura 20 Cambio de las distribuciones de probabilidad para las tres moléculas de interés (A. Proteínas, B. Mensajeros y C. Estado de promotor) en función del incremento de ϵ_{noise} con un $P_{ext} = 1.0 \text{ min}$ para un tiempo 1000.0 min .

En la Figura 20(A) se muestra que la distribución para las proteínas a valores diferentes de ϵ_{noise} . Al incrementar la intensidad del ruido, se comienza a perder la expresión del estado alto por lo que el sistema tiende a la monomodalidad (este resultado ya se discutió previamente) aunque no se pierde la bimodalidad. Kærn *et al.* (2005) determinan que el efecto de bimodalidad es resultado de la presencia de un lazo de retroalimentación fuerte, -resultado explorado más a fondo en la siguiente sección- la presencia de un lazo fuerte conserva la ventaja de expresar más de un estado fenotípico como ventaja del medio. Becskei *et al.* (2001), establecen que la existencia de bimodalidad en eucariotas es generada por una alta cooperatividad en sistemas auto catalíticos induciendo respuestas binarias; en el presente estudio la cooperatividad (se modela como el coeficiente de Hill) y se necesitó un valor alto (Véase metodología), para otorgarle al sistema un alto grado de no linealidad y lograr distribuciones bimodales. Ya sea por la presencia del lazo fuerte o alta cooperatividad esto ayudó para estudiar el efecto del ruido extrínseco en el presente modelo.

Se ha descrito también el efecto de la intensidad de la fuente de ruido externa como motor de variabilidad fenotípica. Los resultados previos muestran que la frecuencia con que se da la estimulación marca un efecto. En Figura 21 se presenta el efecto de variar P_{ext} ante diversas intensidades de ruido para la distribución de proteínas. Las distribuciones se ven favorecidas al estado bajo ante estímulos lentos, aunque el efecto se aprecia solo para intensidades de ruido mayores, resaltando que ϵ_{noise} influencia de manera importante.

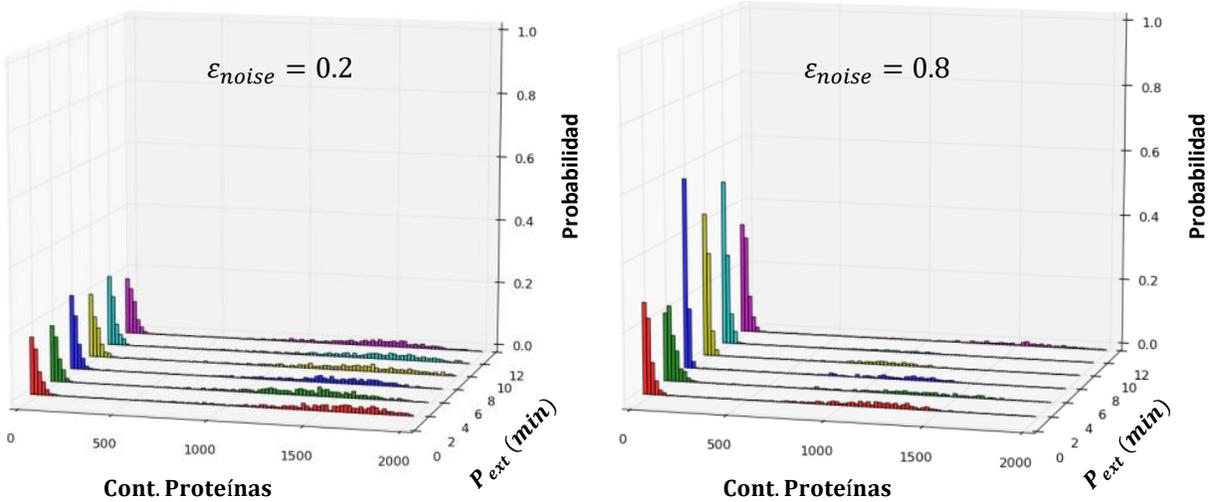


Figura 21: Efecto de la distribución del conteo de proteínas en función del aumento de P_{ext} ante dos valores de ε_{noise} (0.2 y 0.8) para un tiempo de 1000 min .

Para el caso monoestable se encontró que la cantidad de ruido extrínseco percibido en el sistema recaía directamente en los dos parámetros de la fuente de ruido externa. Ante el aumento de cualquier parámetro había un aumento de η_{ext} . Cuando aumentaban las dos, el ruido en el sistema se potencializaba. En el sistema biestable, el periodo de estimulación actúa de manera proactiva dependiente de la intensidad de ruido inducida. Indicando que por efecto de la biestabilidad el sistema se vuelve robusto ante el periodo de estimulación.

De los resultados anteriores se encontró el valor de alternancia entre los diferentes estados –Tabla 4- a partir de estos se obtuvo el rango de estimulación externa; no se encuentra efecto derivado ante el cambio del periodo de la estimulación externa. Acar *et al.* (2008) mencionan que si la alternancia entre los diferentes estados fenotípicos es mayor que el cambio de las condiciones por influencia externa (P_{ext}) existe polidiversidad de expresión (distribuciones más anchas) en caso contrario se espera una población más homogénea (distribuciones angostas). Debido a las limitaciones del modelos y computacionales no se pudo extender el periodo de estimulación externa hasta superar el valor de alternancia para el estado alto de las proteínas por lo que siempre la el periodo de estimulación fue menor, quizá este es el efecto producido por la variación de P_{ext} aunque se observa la alta heterogeneidad de la expresión.

○ **Análisis de correlación**

Un switch es un oscilador no periódico, indicando que su frecuencia de oscilación no es constante. Los resultados anteriores muestrab que los sistemas están fuera de fase, debido a la bimodalidad presentada, si los sistemas estuvieran correlacionados entre sí, se vería una monomodalidad ya que

en un instante de tiempo los sistemas presentarían en el mismo nivel de expresión, aunque esto no indica que se exprese un solo estado. Por esta razón se estudió los factores que afectan la correlación, considerando estos factores los propios de la fuente extrínseca. Esto a la luz del resultado obtenido para el sistema monoestable, del cual, se determinó que el periodo de estimulación es importante para alcanzar una correlación mayor.

Mediante el esquema 1, se simularon 2 sistemas bajo efecto de la variación de $P_{ext} = [1.0, 10.0]$ minutos y $\varepsilon_{noise} = [0.0, 1.0]$ y se calcula el coeficiente de correlación de Pearson[®]. En la Figura 22 Se muestra r en función de ε_{noise} ante varios valores de P_{ext} .

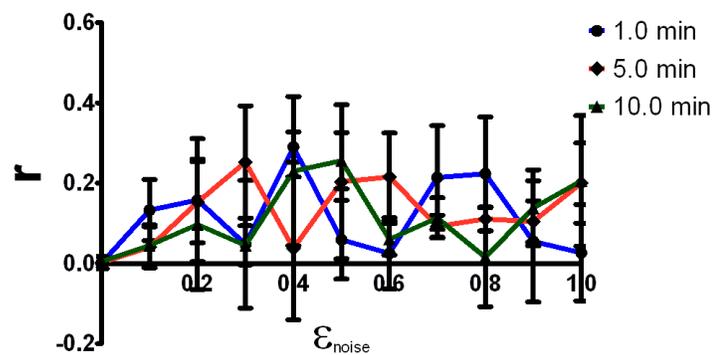


Figura 22: Correlación entre dos sistemas ante el aumento de la intensidad (ε_{noise}) ante distintos valores del periodo de estimulación externa (P_{ext}) para valores de 1.0, 5.0 y 10.0 minutos

La correlación observada en la Figura 22 no indica ninguna tendencia con respecto al incremento del periodo o la intensidad de estimulación de externa. En el sistema monoestable se estableció que el ruido intrínseco a pesar de tener cualidades atenuantes de ruido, es un factor que modifica directamente el tiempo de respuesta del sistema, en función a esto se pensó que la robustez del sistema ante las fluctuaciones externas no permite que el sistema se correlacionara mitigando el efecto de correlación en los sistemas por lo que se implementó una simulación en la cual se variaba el lazo de retroalimentación y medir el coeficiente de correlación. Para obtener el rango de variación de la fuerza del lazo (K_{rp}) se generó el diagrama de bifurcación con respecto a este parámetro; haciendo uso de la aproximación determinista, Figura 23, se obtiene el rango de variación de $[240, 1440]$ Molec*min⁻¹.

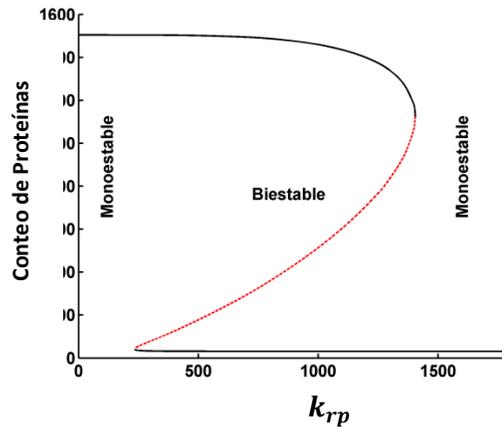


Figura 23 Diagrama de bifurcación ante la fuerza del lazo

Los resultados de la correlación muestran que efectivamente la fuerza del lazo tiene un impacto directo sobre el efecto de correlacionar dos sistemas, la correlación no es únicamente dependiente de la fuerza de la fuente de ruido extrínseca, también es dependiente de la sensibilidad del sistema por igual (Figura 24).

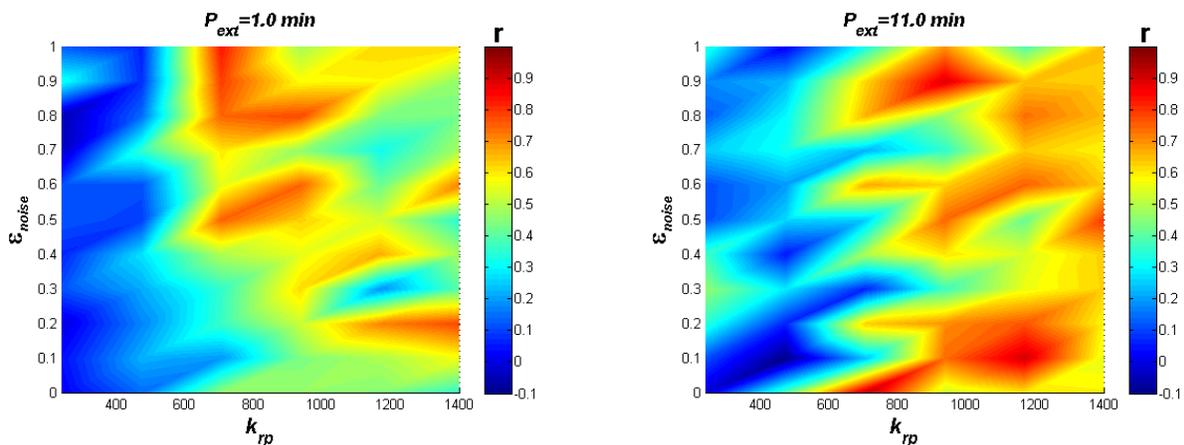


Figura 24: Correlación entre dos sistemas en función de la fuerza del lazo y ϵ_{noise} para dos valores de $P_{ext} = [1.0, 9.0]$ min

Por lo que un sistema con lazo débil necesita menor intensidad de ruido para correlacionarse. Con respecto al periodo de estimulación a mayor periodo mayor es la correlación -al igual que se muestra en el sistema monoestable- pero depende directamente del valor de la fuerza de lazo.

A partir de lo planteado, a través de la cuantificación del aporte de cada una de las componentes al ruido total, es posible determinar la relación entre el ruido y los parámetros del modelo y utilizar tal información como alternativa de control la cantidad de ruido que el sistema tiene o contestar la pregunta de cómo los sistemas vivos hacen para obtener ventajas del ruido y atenuarlo de una forma más específica a lo ya establecido.

Resumen

En resumen, los resultados sobresalientes obtenidos para cada sistema se enuncian a continuación

Sistema monoestable

- a. Mientras mayor es el periodo de estimulación externa mayor es la correlación alcanzada por el sistema
- b. Existe disminución del ruido extrínseco percibido como resultado de hacer el lazo de retroalimentación más fuerte.
- c. La estimulación externa con un periodo igual al tiempo de respuesta no provoca una respuesta potencializada.
- d. El coeficiente de Hill no afecta a ninguna de las componentes del ruido
- e. Los parámetros asociados a la degradación de las moléculas y la fuerza del lazo son los únicos que afectan a la cantidad de ruido extrínseco percibido

Sistema biestable

- a. El ruido extrínseco obliga al sistema a perder la componente lenta de alternancia, además ralentiza la componente rápida.
- b. El ruido extrínseco aumenta la probabilidad de que el sistema permanezca preferentemente en el estado apagado
- c. A menor fuerza del lazo, el sistema se correlaciona menos.
- d. La estimulación externa a periodos iguales a los tiempos naturales de respuesta no provoca un efecto sobresaliente.

Conclusión

En este trabajo se estudió la influencia del ruido extrínseco sobre un modelo biológico representativo de un sistema de expresión génica. El ruido extrínseco fue controlado por dos parámetros (periodo e intensidad). Los resultados permiten concluir que:

Los dos parámetros coadyuvan a correlacionar sistemas independientes.

Los sistemas tienen un comportamiento de reducción de ruido inducida por ruido.

No hay efecto de resonancia en sistemas con retroalimentación positiva.

En sistemas influenciados por ruido, su respuesta es dependiente de las tasas de degradación y la fuerza del lazo de retroalimentación.

En población, el ruido extrínseco mantiene en estado de bajo coste energético a los sistemas, hasta que las fluctuaciones en las condiciones ambientales se ralenticen y se puedan adaptar al entorno.

Perspectivas

El presente proyecto presenta algunas limitaciones de análisis debido a su aproximación numérica por lo que no lo hace el mejor candidato (en cuestión de eficiencia computacional) para estudiar estimulaciones a periodos grandes, por lo que una mejor aproximación para estudiar este efecto sería a través de ecuaciones diferenciales estocásticas y poder hacer un estudio en el dominio de la frecuencia.

Por otro lado una implementación experimental ayudaría a verificar las predicciones y poder proponer nueva información, mediante la creación de un plásmido sintético con las características planteadas para las simulaciones.

A su vez existen otras dinámicas complejas generadas a partir de retroalimentación positiva que en el presente trabajo no se estudian como las oscilaciones, por lo que un análisis como el planteado para este tipo de sistemas complementaria al presente estudio.

Apéndice A

Análisis deterministas para el modelo monoestable

La abstracción determinista de un sistema de regulación génica monoestable con retroalimentación positiva parte del hecho que se modela la dinámica del promedio de las moléculas; está descrito por el siguiente conjunto de ecuaciones de ecuaciones diferenciales ordinarias:

$$\frac{dP_a}{dt} = k_a f(P)_m (1 - P_a) - k_i P_a = f_1(P_a) \quad (1)$$

$$\frac{dM}{dt} = k_{ma} P_a + k_{mi} (1 - P_a) - \gamma_m M = f_2(M) \quad (2)$$

$$\frac{dP}{dt} = k_p M - \gamma_p P = f_3(P) \quad (3)$$

$$f(P)_m = \left(\frac{k_{rp}^{nh} + P^{*nh}}{\bar{P}^{*nh}} \right) \left(\frac{P^{nh}}{k_{rp}^{nh} + P^{nh}} \right) \quad (4)$$

En donde P_a denota el estado promedio del promotor activo; M y P representan el número promedio de moléculas mRNA y proteínas respectivamente. El promotor puede estar en estado activo o inactivo y tiene asociada una tasa de ocurrencia en cada dirección k_a y k_i . La síntesis de mRNA puede ser por dos vías: la primera cuando el promotor está activo (k_{ma}), y la segunda cuando el promotor está inactivo (k_{mi}). La tasa de síntesis de proteínas está determinada por k_p . Los mRNA's y proteínas tienen un tiempo de vida media por lo que sus tasas de degradación están determinadas por γ_m y γ_p .

La función $f(P)_m$ denota el lazo de retroalimentación que está descrito por dos parámetros k_{rp} y nh ; el inverso del primero representa la fuerza que tiene el lazo y el segundo es el coeficiente de hill (biológicamente es el grado de cooperatividad que existe en el sistema) El coeficiente de hill dictamina en gran medida la no linealidad. Finalmente P^* representa el valor de estado estacionario para las proteínas. Los sistemas con retroalimentación positiva son fuertes candidatos a presentar biestabilidad por que la función $f(P)_m$ tiene un término normalizador que obliga a que sólo haya un estado estacionario estable para todo el espacio de parámetros

Los valores establecidos son representativos para sistemas procariotas (Zeron & Santillán, 2010). Los valores se muestran en la tabla Ap-A 1

Tabla Ap-A 1: Valores de parámetros estimados

k_a	0.1 min ⁻¹
k_i	0.2 min ⁻¹
k_{ma}	14.0 min ⁻¹
k_{mi}	0.5 min ⁻¹
k_p	20.0 min ⁻¹
γ_m	1.0 min ⁻¹
γ_p	0.1 min ⁻¹
k_{rp}	100.0 Molec. min ⁻¹
nh	2

Para calcular el valor del estado estacionario, las ecuaciones (1), (2) y (3) se igualan a cero. Una ecuación diferencial ordinaria respecto al tiempo al ser igualada a cero indica que la variable se vuelve invariante en el tiempo. A continuación se presentan los valores de estado estacionario para P_a , M y P .

$$P_a^* = \frac{k_a}{k_a + k_i} \quad (5)$$

$$M^* = \frac{1}{\gamma_m} \frac{k_a k_{ma} + k_i k_{mi}}{(k_a + k_i)} \quad (6)$$

$$P^* = \frac{k_a}{\gamma_m \gamma_p} \frac{k_a k_{ma} + k_i k_{mi}}{(k_a + k_i)} \quad (7)$$

El valor de los tres diferentes estados estacionarios únicamente depende del valor de los parámetros. Substituyendo los valores de la tabla Ap-A 1, dentro de las ecuaciones (5), (6) y (7), los valores para el estado estacionario son 0.3333, 5.0 y 1000.0 respectivamente.

Para comprobar que el estado estacionario es estable se utilizó el siguiente teorema.

$$\lambda I - J(P_a^*, M^*, P^*) = 0 \tag{8}$$

$$J(P_a^*, M^*, P^*) = \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial P_a} & \frac{\partial f_1}{\partial M} & \frac{\partial f_1}{\partial P} \\ \frac{\partial f_2}{\partial P_a} & \frac{\partial f_2}{\partial M} & \frac{\partial f_2}{\partial P} \\ \frac{\partial f_3}{\partial P_a} & \frac{\partial f_3}{\partial M} & \frac{\partial f_3}{\partial P} \end{bmatrix} \tag{9}$$

$$\lambda I = \begin{bmatrix} \lambda & 0 & 0 \\ 0 & \lambda & 0 \\ 0 & 0 & \lambda \end{bmatrix} \tag{10}$$

Al resolverse la ecuación (8) se encuentran los tres valores de λ , si tales valores son menores a cero significa que los estados estacionarios del sistema son estables (Strogatz, 1994). $J(P_a^*, M^*, P^*)$ es el Jacobiano evaluado en los estados estacionarios y λI es la matriz identidad multiplicada por un factor λ .

El resultado de la ecuación (8) se muestra a continuación

$$(\lambda + (k_a + k_i))(\lambda + \gamma_m)(\lambda + \gamma_p) + A = 0 \tag{11}$$

Para comprobar si el sistema es estable no es necesario el valor de λ , únicamente se necesita que sea menor a cero. De la ecuación (11) se concluye que existen tres valores diferentes para λ negativos debido a que $A < 0$ por lo que el sistema posee tres estados estacionarios diferentes y estables.

Ya explorada la estabilidad del sistema, otro parámetro importante es el tiempo de respuesta (t_r), el cual, se define como el tiempo que tarda el sistema en llegar al estado estacionario. Este tiempo se obtiene a partir de simulaciones; resolviendo numéricamente el sistema descrito por las ecuaciones (1), (2), (3) y (4).

El tiempo de respuesta es numéricamente dependiente del valor de los parámetros, de especial interés se tiene en saber cuál es el efecto de variar la fuerza del lazo de retroalimentación, la cual va en relación al inverso de k_{rp} . La Figura Ap-A 1 muestra el efecto del incremento de k_{rp} sobre el tiempo de respuesta.

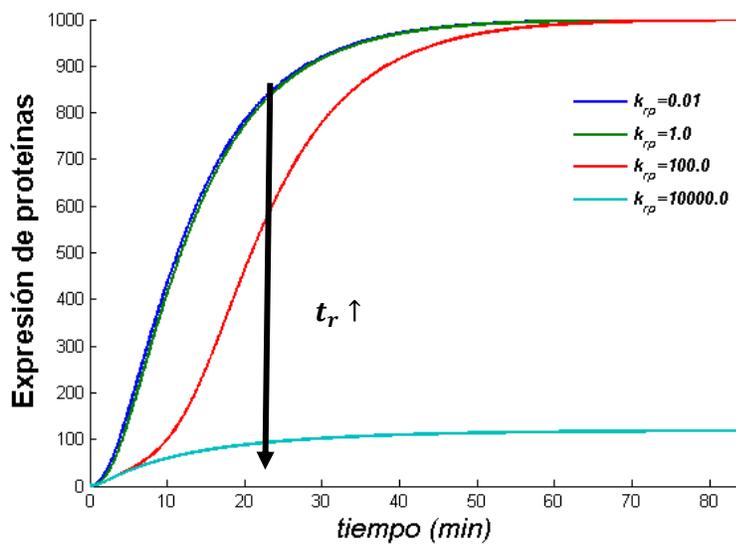


Figura Ap-A 1: Análisis del tiempo de respuesta (t_r) en función del decremento de la fuerza del lazo de retroalimentación ($\propto 1/k_{rp}$)

El resultado anterior muestra que, a mayor fuerza del lazo de retroalimentación (valores de k_{rp} menores) el tiempo de respuesta es menor en comparación de fuerzas de lazo débiles (valores de k_{rp} mayores) estableciéndose una relación inversa. Indicando que una fuerza del lazo dota al sistema de sensibilidad.

Apéndice B

Análisis deterministas para el modelo biestable

La abstracción determinista de un sistema de regulación génica biestable con retroalimentación positiva se realiza en general de la misma forma que la realizada para el sistema monoestable: la diferencia entre los dos sistemas es la topología asociada al lazo de retroalimentación ($f(P)_{sw}$). El sistema se describe con el siguiente conjunto de ecuaciones diferenciales ordinarias (ODE):

$$\frac{dP_a}{dt} = k_a f(P)_m (1 - P_a) - k_i P_a = f_1(P_a) \quad (1)$$

$$\frac{dM}{dt} = k_{ma} P_a + k_{mi} (1 - P_a) - \gamma_m M = f_2(M) \quad (2)$$

$$\frac{dP}{dt} = k_p M - \gamma_p P = f_3(P) \quad (3)$$

$$f(P)_{sw} = \left(\frac{P^{nh}}{k_{rp}^{nh} + P^{nh}} \right) \quad (4)$$

Los valores establecidos son representativos para sistemas procariontes (Zeron & Santillán, 2010). Los valores se muestran en la Tabla Ap-B 1

Tabla Ap-B 1: Valores de parámetros estimados

k_a	0.6 min ⁻¹
k_i	0.1 min ⁻¹
k_{ma}	14.0 min ⁻¹
k_{mi}	0.25 min ⁻¹
k_p	20.0 min ⁻¹
γ_m	1.0 min ⁻¹
γ_p	0.16 min ⁻¹
k_{rp}	400.0 Molec. min ⁻¹
nh	4

La representación descrita mediante el conjunto de ecuaciones anteriores se desea que describa un comportamiento biestable, el cual se caracteriza por tener dos estados estacionarios (EE) estables separados por uno inestable. Por lo que es necesario comprobar la existencia de tales características en el modelo.

Un sistema biestable tiene una dependencia directa sobre los parámetros del modelo y muchas combinaciones de ellos pueden llevar al sistema a la biestabilidad, el rango de búsqueda de los parámetros se basó en los rangos biológicamente aceptados.

Para saber la afección de la variación paramétrica sobre la biestabilidad se trazan diagramas de bifurcación; con la peculiaridad de tener una dimensión por cada parámetro, la imposibilidad de crear espacios de 9 dimensiones llevan a la búsqueda de formas alternativas de comprobar la dinámica biestable.

A partir de una ecuación diferencial ordinaria se pueden crear las curvas con pendiente nula, tales curvas son trazos en los cuales en todo su contra dominio las pendientes (derivadas) son cero. Si se tiene un sistema de ODE's se obtiene una curva por cada ecuación, graficándolas y buscando los puntos de intersección se encuentran los puntos de equilibrio del sistema.

Para construir las curvas se igual a cero las ecuaciones (1), (2) y (3), y se busca una expresión de forma algebraica en la que una variable depende de la otra, para el caso particular, la expresión se buscó en función de \bar{P} . En lugar de tener tres curvas se obtuvieron dos debido a que la dinámica de los mRNA se consideró constante (ecuación (5)) debido a que son moléculas lábiles de rápida síntesis y degradación.

$$M^* = \frac{k_{mi} + P_a(k_{ma} - k_{mi})}{\gamma_m} \quad (5)$$

Por lo que la ecuación (5) se substituyó en la ecuación (3). Las curvas con pendiente obtenidas son las determinadas por las ecuaciones (6) y (7) generadas a partir de las ecuaciones (1) y (3) respectivamente. Como ya se mencionó los puntos de intersección identifican los puntos de equilibrio por lo que busca que le sistema tenga tres de ellos.

$$f_1(P) = P_a(P) = \frac{PY_mY_p - k_{mi}k_p}{k_p(k_{ma} - k_{mi})} \tag{6}$$

$$f_2(P) = P_a(P) = \frac{k_a P^{nh}}{k_a P^{nh} + k_i(k_{rp}^{nh} + k_a P^{nh})} \tag{7}$$

$$f_2(P) = f_1(P) \tag{8}$$

Los puntos de intersección se obtienen mediante la igualdad descrita por la ecuación (8); los curvas se intersectan si el valor obtenido de la evaluación de P es el mismo.

La Figura Ap-B 1 muestra las curvas f_1 y f_2 en función de P ; los puntos de intersección se marcan con puntos negros, las líneas discontinuas muestran el valor de equilibrio para P . Obtenidos los tres valores de intersección de las proteínas se calculan los respectivos para P_a y M haciendo las substituciones respectivas en las ecuaciones (5) y (9). Los valores obtenidos para las tres especies se muestran en la Tabla Ap-B 2.

$$P_a^* = \frac{k_a P^{nh}}{k_a P^{nh} + k_i(k_{rp}^{nh} + P^{nh})} \tag{9}$$

Hasta el momento sólo se han descrito los puntos de equilibrio del sistema pero no su estabilidad. Para determinar la estabilidad de los puntos de equilibrio de la ecuación (8) se puede sacar una ecuación que determina la dinámica del cambio en la concentración de proteínas, Ecuación (10)

$$f(P) = \frac{dP}{dt} = f_2(P) - f_1(P) \tag{10}$$

Una ecuación diferencial tiene una representación en el campo vectorial determinado por $f(P)$ Tal representación se basa en la esquematización de la dirección del vector velocidad $f(P)$ de la partícula P . Para llevar a cabo tal representación se siguen las siguiente estipulaciones (Strogatz, 2000):

Si $P < EE_i$ y $f(P) < 0$ se coloca una flecha con dirección hacia la derecha a la izquierda del EE_i

Si $P < EE_i$ y $f(P) > 0$ se coloca una flecha con dirección hacia la izquierda a la izquierda del EE_i

Si $P > EE_i$ y $f(P) < 0$ se coloca una flecha con dirección hacia la derecha a la derecha del EE_i

Si $P > EE_i$ y $f(P) > 0$ se coloca una flecha con dirección hacia la izquierda a la derecha del EE_i

Una vez trazados los vectores de velocidad se analizan las direcciones. Si los puntos de equilibrio son apuntados se determina que es estable; en caso contrario indica que son inestables.

En la Figura Ap B-2 se representa el campo vectorial para la velocidad ($f(P)$) para P (Línea azul). Los puntos de equilibrios están representados por los puntos amarillos; las direcciones de los vectores velocidad están representadas por las flechas rojas sobre la recta $y = 0$.

Se observa que los puntos de equilibrio de los extremos están siendo apuntados por las direcciones del vector velocidad, por lo que se concluye que los valores extremos son estables separados por uno inestable.

La estabilidad de los valores en estado estacionario se muestra en la Tabla Ap- B para cada especie molecular, del análisis anterior se obtuvo la estabilidad para el equilibrio de las proteínas, se iguala la estabilidad para el equilibrio de mensajeros y promotor.

Tabla Ap-B 2: Estados estacionario su estabilidad para: P_a , M y P

	P_a	M	P	Estabilidad
EE_1	0.000233	0.2532	31.6	Estable
EE_2	0.0549	1.004875	125.8	Inestable
EE_3	0.8565296	12.027	1503.4	Estable

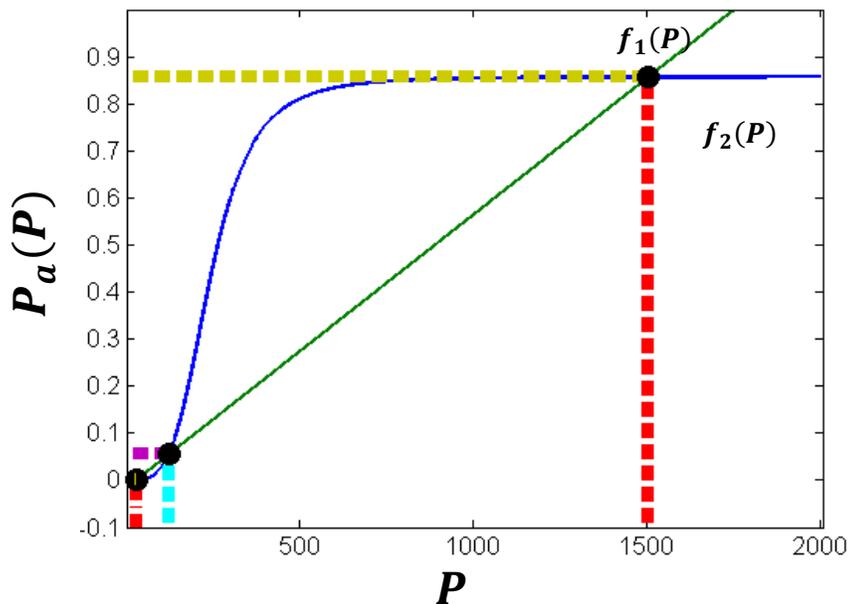


Figura Ap-B 1: Curvas de pendiente nula generadas a partir las dinámicas de: promotor (línea azul) y proteínas (línea verde)

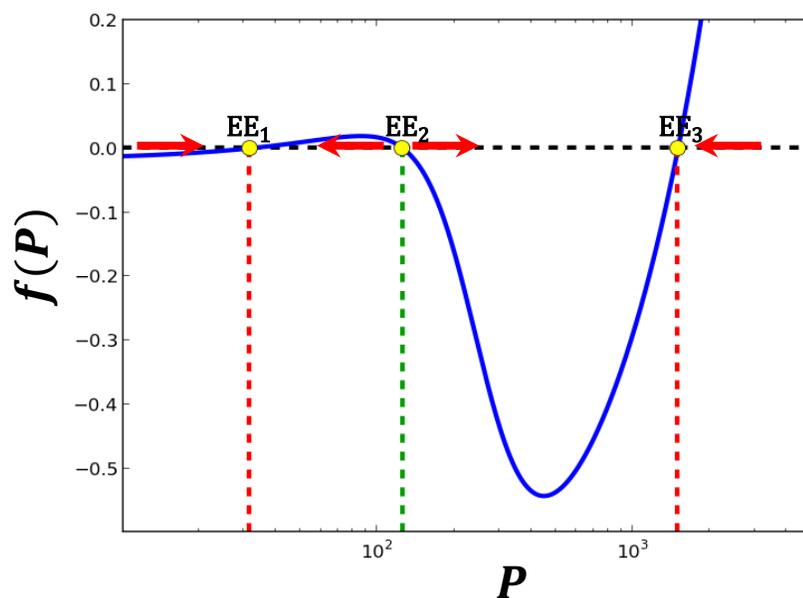


Figura Ap-B 2: Campo vectorial para $f(P)$; los cruces por cero (puntos de equilibrio) se denotan por los puntos amarillos. Las líneas rojas indican los puntos de equilibrio estables, y la línea verde el punto de equilibrio inestable.

Apéndice C

Análisis de un sistema con expresión constitutiva

El sistema más sencillo de expresión de genes es aquel en el cual ni la transcripción o traducción está regulada, a este tipo de sistema se les conoce como de expresión constitutiva; corresponde a sistemas en los que la proteína siempre está en concentración constante (i.e. tubulina y actina en células de mamífero) Una representación esquemática se presenta en el Figura Ap-C1.

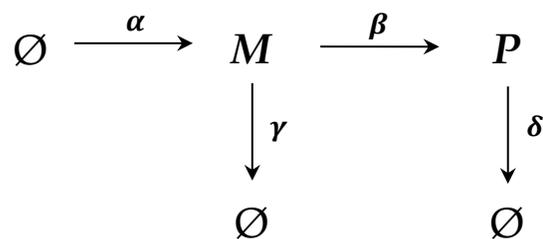


Figura Ap-C 1: Esquematización de un sistema que se expresa constitutivamente.

En donde M representa los mRNA, P es para las proteínas, α es la tasa de iniciación de la transcripción y β es la tasa de síntesis de proteínas; γ y δ son las tasas de degradación respectivas

Se tomaron valores para las tasas representativos de un sistema procarionta (Zerón y Santillán, 2010. Zerón y Santillán, 2011) los cuales se muestran en la tabla Ap-C1.

Tabla Ap-C 1: Valores de tasas de reacción

α	5.0 molec. min ⁻¹
β	20.0 min ⁻¹
γ	1.0 min ⁻¹
δ	0.05 min ⁻¹

El sistema de interés se estudió bajo dos enfoques: el determinista que considera que \bar{M} y \bar{P} representan el valor promedio del conteo de mRNA y proteínas respectivamente y la dinámica se puede estudiar con un conjunto de ecuaciones diferenciales; el estocástico considera el sistema como un conjunto de reacciones químicas con distintas propensiones para la ocurrencia de una determinada. Ambas representaciones se muestran a continuación.

$$\frac{d\bar{M}}{dt} = \alpha - \gamma\bar{M} \quad (1)$$

$$\frac{d\bar{P}}{dt} = \beta\bar{M} - \delta\bar{P} \quad (2)$$

Número	Reacción	Propensión
1	$\emptyset \xrightarrow{\alpha} M$	α
2	$M \xrightarrow{\gamma} \emptyset$	$M\gamma$
3	$M \xrightarrow{\beta} P$	$M\beta$
4	$P \xrightarrow{\delta} \emptyset$	$P\delta$

La representación determinista se ocupó para obtener los estados estacionarios descritos por:

$$\bar{M}^* = \frac{\alpha}{\gamma}, \bar{P}^* = \frac{\alpha\beta}{\gamma\delta} \quad (3)$$

La solución temporal del sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias está dado por:

$$\bar{M}(t) = \bar{M}^* + (\bar{M}(0) - \bar{M}^*)e^{-\gamma t} \quad (4)$$

$$\bar{P}(t) = \bar{P}^* + (\bar{P}(0) - \bar{P}^*)e^{-\delta t} - \frac{\alpha}{\gamma - \delta} (\bar{M}(0) - \bar{M}^*) (e^{-\gamma t} - e^{-\delta t}) \quad (5)$$

De las ecuaciones (4) y (5) se observa que las soluciones se aproximan al estado estacionario de manera exponencial, por lo que el tiempo de respuesta está determinado por las tasas de degradación, en el caso de la solución temporal de la dinámica de las proteínas se observa que depende de las dos tasas de degradación, dominando la respuesta el parámetro más lento (δ)

La intención del proyecto fue estudiar el efecto del sistema presentado en la Figura Ap- C1 bajo la influencia de ruido extrínseco y el efecto de la variación paramétrica, por lo que se supuso que las dos tasas de síntesis varían bajo una distribución normal. El algoritmo está presentado en el esquema 1 del texto principal con la variante que la fuente de ruido externa se modela solo bajo un parámetro

de control (ϵ) que denota la desviación estándar de la distribución normal por lo que al aumentar, el rango de variación aumenta. Los sistemas se simularon un tiempo de 1×10^4 minutos para después cuantificar las distintas componentes del ruido.

Las dos figuras que a continuación se presentan muestran dos resultados: el primero es el generado a partir de la percepción de ruido ya sea intrínseca (η_{int}) o extrínseca (η_{ext}) en función del aumento de la intensidad de la fuente de ruido externa (ϵ) y el segundo con respecto como se afecta las componentes del ruido en función de la variación de los diversos parámetros.

Los resultados obtenidos se concentran en la Tabla Ap-C 2, la cual se lee de la siguiente manera; el símbolo '+' indica que ante el aumento del parámetro existe aumento de la componente del ruido, en el caso de '-' representa que hay una dependencia inversa (ante aumento del parámetro existe un decremento de la cantidad de ruido) y el '0' indica que la variación de parámetros es inocua.

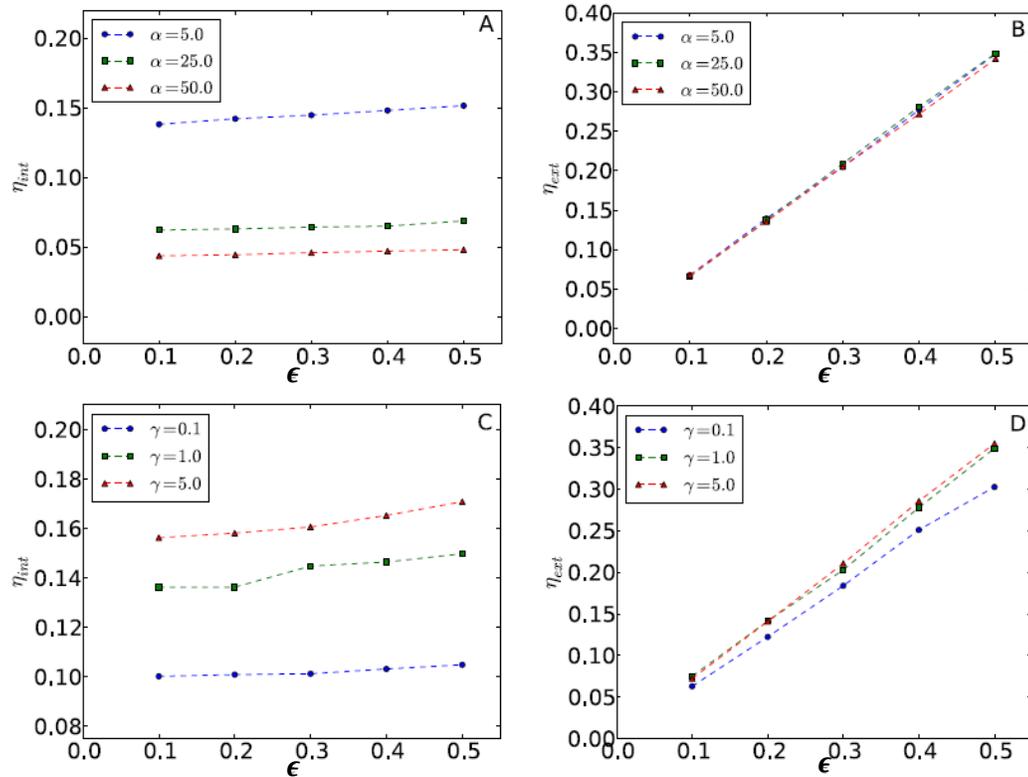


Figura Ap-C 2: Graficas de η_{int} (A y C) y η_{ext} (B y D) vs ϵ para varios valores de la tasa transcripción (α) y degradación (γ)

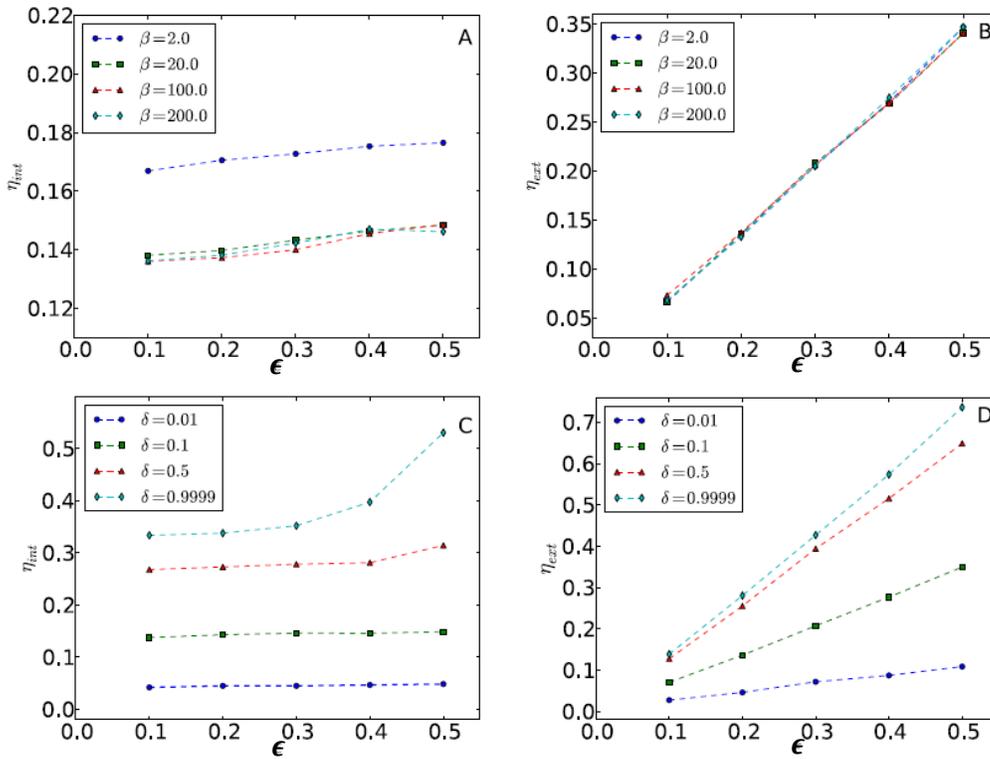


Figura Ap-C 3: Graficas de η_{int} (A y C) y η_{ext} (B y D) vs ϵ para varios valores de la tasa traducción (β) y degradación (δ)

El parámetro ϵ no afecta a la cantidad de ruido intrínseco percibido, esto se debe a que ambas componentes están de manera desacoplada debido a que es un sistema de expresión constitutiva (Tañase-Nicola *et. al.*, 2006) Los parámetros que si afectan al η_{int} son los asociado al modelo, esto se debe a que al variar cualquier parámetro se afecta el estado estacionario del sistema.

Se sabe que el ruido intrínseco va relacionado al inverso de la raíz del número de moléculas (Elowitz, *et. al.* 2002), por lo que al variar los parámetros se afecta el estado estacionario, aquellos que los disminuyan provocan un incremento en el ruido intrínseco percibido; de manera contraria aquellos parámetros que aumenten el estado estacionario.

Tabla Ap-C 2: Relación existente entre η_{nt} y η_{ext} y los parámetros del modelo, El signo '+' y '-' determina que η_{nt} ó η_{ext} aumentan o disminuyen de acuerdo a incrementos del parámetro correspondiente. El '0' denota una correspondencia nula.

Parámetro	η_{int}	η_{ext}
ϵ	0	+
k_{ma}	-	0
γ_m	+	+
k_p	-	0
γ_p	+	+

Los parámetros que afectan la cantidad de ruido extrínseco en el sistema solo son tasas de degradación, aunque en mayor medida la relacionada a la degradación de las proteínas. Este resultado se contrasta con el obtenido de las ecuaciones (4) y (5). Se concluye que las dinámicas temporales están regidas por las tasas de degradación y particular con la más lenta. La relación entre tiempos de respuesta y control del ruido extrínseco no se ha encontrado fundamento por lo que requiere de mayor atención.

Cómo conclusión relevante de este proyecto se encuentra que los parámetros de control para un sistema de expresión constitutiva son las tasas de degradación.

Referencias

- Acar, M., Metzger, J.T. & van Oudenaarden, A. (2008) **Stochastic switching as a survival strategy in fluctuating environments.** Nature Genetics. **40**(4):471-5
- Alon, U. (2006) **Network motifs: theory and experimental approaches.** Nature Review Genetics. **8**:450-461
- Angeli, D., Ferrell, J.E., & Sontag, E.D. (2004) **Detection of multistability, bifurcations, and hysteresis in a large class of biological positive-feedback systems.** PNAS **101**(7): 1822-1827
- Assaf, M., Roberts, E., Luthey-Schulten, Z. & Goldenfeld, N. (2013) **Extrinsic noise driven phenotype switching in a self-regulating gene.** arXiv:1302.2724[q-bio.MN]
- Bar-Even, A., Paulsson, J., Maheshri, N., Carmi, M., O'Shea, E., Pilpel, Y. & Barkai N. (2006) **Noise in protein expression scales with natural protein abundance.** Nat Genet. **38**(6):636-43.
- Bateman E (1998) **Autoregulation of eukaryotic transcription factors.** Prog Nucleic Acid Res Mol Biol. **60**:133–168.
- Becskei, A. & Serrano, L. (2000) **Engineering stability in gene networks by autoregulation.** Nature **405**: 590–593

- Beckskei, A., Séraphin, B. & Serrano, L. (2001) **Positive feedback in eukaryotic gene networks: cell differentiation by graded to binary response conversion.** *EMBO J.* **20**(10): 2528–2535.
- Blake, W.J., Kærn, M., Cantor, C.R. & Collins, J.J. (2003) **Noise in eukaryotic gene expression.** *Nature* **422**: 633–637
- Browsner, C.G. & Swain, P.S. (2012) **Identifying sources of variation and flow of information in biochemical networks.** *PNAS.* **109**(20): E1320–E1328
- Choi, P.J., Cai, L., Frieda, K. & Xie, X.S. (2008) **A stochastic single-molecule event triggers phenotype switching of a bacterial cell.** *Science.* **322**(5900):442-6
- Choi, P.J., Xie, X.S. & Shakhnovich, E.I. (2010) **Stochastic switching in gene networks can occur by a single-molecule event or many molecular steps.** *J Mol Biol.* **396**(1):230-44.
- Cox, C.D., McCollum, J.M., Austin, D.W., Allen, M.S., Dar, R.D. & Simpson, M.L. (2006) **Frequency domain analysis of noise in simple gene circuits.** *Chaos* **16**:026102
- Crick, F. (1970) **Central Dogma of Molecular Biology.** *Nature.* **227**: 561.
- DePas, W.H., Hufnagel, D.A., Lee, J.S., Blanco, L.P., Bernstein, H.C., Fisher, S.T., James, G.A., Stewart, P.S. & Chapman, M.R.(2013) **Iron induces bimodal population development by Escherichia coli.** *Proc Natl Acad Sci U S A.* **110**(7):2629-34.
- Dubkov, A.A., Agudov, N.V. & Spagnolo B. (2004) **Noise-enhanced stability in fluctuating metastable states.** *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys.* **69**: 061103.
- Earnest, T.M., Roberts, E., Assaf, M., Dahmen, K. & Luthey-Schulten, Z. (2013) **DNA looping increases the range of bistability in a stochastic model of the lac genetic switch.** *Phys Biol.* **10**(2):026002.
- Elowitz, M.B., Levine, A.J., Siggia, E.D. & Swain, P.S. (2002) **Stochastic gene expression in a single cell.** *Science.* **297**: 183–186
- Ferrell, J.E. Jr. & Machleder, E.M. (1998) **The biochemical basis of an all-or-none cell fate switch in Xenopus oocytes.** *Science.* **280**(5365):895-8.
- Freeman, M. (2000) **Feedback control of intercellular signalling in development.** *Nature.* **408**: 313–319.

- Fudenberg, D. & Imhof, L.A. (2012) **Phenotype Switching and Mutations in Random Environments** Bull Math Biol. **74**:399–421
- Gillespie, D. (1977) **Exact Stochastic Simulation of Coupled Chemical Reactions**. Journal of Physical Chemistry. **81**:2340
- Hellström, A. & Rammsayer, T.H. (2004) **Effects of time-order, interstimulus interval, and feedback in duration discrimination of noise bursts in the 50- and 1000-ms ranges** Acta Psychol (Amst). **116**(1):1-20.
- Hornung G. & Barkai N. (2008) **Noise Propagation and Signaling Sensitivity in Biological Networks: A Role for Positive Feedback**. PLoS Comput Biol. **4**(1): e8.
- Newman, J.R., Ghaemmaghami, S., Ihmels, J., Breslow, D.K., Noble, M., DeRisi, J.L. & Weissman, J.S. (2006) **Single-cell proteomic analysis of *S. cerevisiae* reveals the architecture of biological noise**. Nature. **441**: 840–846
- Jaruszewicz, J., Zuk, P.J., Lipniacki, T. (2013) **Type of noise defines global attractors in bistable molecular regulatory systems**. J Theor Biol. **317**:140-51
- Kærn, M., Elston, T.C., Blake, W.J. & Collins J.J. (2005) **Stochasticity in gene expression: from theories to phenotype**. Nature, Nature reviews. **6**:451-464
- Kar, S., Baumann, W.T., Paul, M.R. & Tyson, J.J. (2009) **Exploring the roles of noise in the eukaryotic cell cycle**. Proc Natl Acad Sci U S A. **106**(16):6471-6.
- Karlin, S. & Taylor, H.M. (1998). **An Introduction to Stochastic Modeling**, Academic Press. ISBN 0-12-684887-4.
- Løbner-Olesen, A. (1999) **Distribution of minichromosomes in individual *Escherichia coli* cells: implications for replication control**. EMBO J. **18**:1712–1721.
- Maloney, P.C. & Rotman, B. (1973) **Distribution of suboptimally induced β -D-galactosidase in *Escherichia coli*. The enzyme content of individual cells**. J. Mol. Biol. **73**:77–91
- Mantegna, R.N., Spagnolo, B. (1996) **Noise Enhanced Stability in an Unstable System**. Phys Rev Lett. **76**:563–566.

- Mehta, P., Mukhopadhyay, R. & Wingreen, N.S. (2008) **Exponential sensitivity of noise-driven switching in genetic networks**. *Phys Biol*. **5**(2):026005.
- Mettetal, J.T., Muzzey, D., Pedraza, J.M., Ozbudak, E.M. & van Oudenaarden A. (2006) **Predicting stochastic gene expression dynamics in single cells**. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **103**(19):7304-9.
- Nelson, D. L. & Cox, M. M. (2005) **Lehninger principles of biochemistry** (W.H. Freeman, New York), 4th ed., ISBN 0716743396.
- Newby, J.M. (2011) **Isolating intrinsic noise sources in a stochastic genetic switch**. arXiv:1111.1415[physics.bio-ph]
- Novak, B. & Tyson, J.J. (2008) **Design principles of biochemical oscillators**. *Nature Rev. Mol. Cell Biol*. **9**:981-991.
- Novick, A. & Weiner, M. (1957) **Enzyme induction as an all-or-none phenomenon**. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. **43**:553-566.
- Orell, D. & Boluri, H. (2004) **Control of internal and external noise in genetic regulatory networks** *The Journal of Theoretical Biology*. **230**:301-312.
- Ozbudak, E. M., Thattai, M., Kurtser, I. Grossman, A. D. & van Oudenaarden, A. (2002) **Regulation of noise in the expression of a single gene**. *Nature Genet*. **31**:69-73
- Paulsson, J. (2004) **Summing up the noise in gene networks**. *Nature* **427**:415-418
- Pedraza, J. M. & Paulsson, J. (2008) **Effects of molecular memory and bursting on fluctuations in gene expression**. *Science*. **319**:339-343
- Prill, R. J., Iglesias, P. A., Levchenko, A. (2005) **Dynamic Properties of Network Motifs Contribute to Biological Network Organization**. *PLoS Biol* **3**(11): e343.
- Karmakar, R. & Bose, I. (2007) **Positive feedback, stochasticity and genetic competence**. *Phys. Biol*. **4**: 29-37
- Rao, C.V., Wolf, D.M. & Arkin, A.P. (2012) **Control, exploitation and tolerance of intracellular noise**. *Nature*, **420**: 231-237

- Raser, M.J. & O'Shea, K.E. (2004) **Control of Stochasticity in Eukaryotic Gene Expression.** Science. **304**(5678): 1811-1814
- Raser, M. J, & O'Shea, K. E. (2005) **Noise in Gene Expression: Origins, Consequences, and Control.** Science. **309**:2010-2013.
- Rizk, A., Batt, G., Fages, F. & Soliman, S. (2009) **A general computational method for robustness analysis with applications to synthetic gene networks.** Bioinformatics. **25**(12):i169-78.
- Schroedinger, E. (1944) **What is Life?** (Cambridge Univ. Press, Cambridge)
- Shahrezaei, V., Ollivier, J. F. & Swain, P. S. (2008) **Colored extrinsic fluctuations and stochastic gene expression.** Molecular Systems Biology. **4**:196
- Sigal A., Milo, R., Cohen, A., Geva-Zatorsky, N., Klein, Y., Liron, Y., Rosenfeld, N., Danon, T., Perzov, N. & Alon, U. (2006) **Variability and memory of protein levels in human cells.** Nature. **444**:643-646
- Simpson, M.L., Cox, C.D., Allen, M.S., McCollum, J.M., Dar, R.D., Karig, D.K. & Cooke, J.F. (2009) **Noise in biological circuits.** Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol. **1**(2):214-25.
- Singh, A., Razooky, B.S., Dar, R.D. & Weinberger, L.S. (2010) **Dynamics of protein noise can distinguish between alternate sources of gene-expression variability.** Mol Syst Biol. **8**:607.
- Smits, W.K., Kuipers, O.P. & Veening Jan-Willenm (2006) **Phenotypic variation in bacteria: the role of feedback regulation.** Nature Reviews Microbiology. **4**: 259-271
- Strogatz, S.H. (1994) **Nonlinear dynamics and chaos: with applications to physics, biology, chemistry and engineering.** West view press, USA.
- Tănase-Nicola, S., Warren, P.B. & ten Wolde, P.R. (2006) **Signal Detection, Modularity, and the Correlation between Extrinsic and Intrinsic Noise in Biochemical Networks.** Phys Rev Lett. **97**(6):068102.
- Tao, Y. (2004) **Intrinsic noise, gene regulation and steady-state statistics in a two-gene network.** J Theor Biol. **231**(4):563-8.

- Tian, X.J., Zhang, X.P., Liu, F. & Wang, W. (2009) **Interlinking positive and negative feedback loops creates a tunable motif in gene regulatory networks**. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys.* **80**:011926.
- Thattai, M. & van Oudenaarden, A. (2001) **Intrinsic noise in gene regulatory networks**. *PNAS* **98**:8614.
- Thieffry, D., Huerta, A.M., Perez-Rueda, E. & Collado-Vides, J. (1998) **From specific gene regulation to genomic networks: a global analysis of transcriptional regulation in Escherichia coli**. *BioEssays.* **20**:433–440.
- van Kampen, N.G. (1992) **Stochastic Processes in Physics and Chemistry** (North-Holland, Amsterdam)
- Walpole, R.E. & Myers, R.H. (1999) **Probabilidad y Estadística para ingenieros** (Pearson Educations), 6th ed.
- Wang, C., Yi, M., Yang, K. & Yang, L. (2012) **Time delay induced transition of gene switch and stochastic resonance in a genetic transcriptional regulatory model**. *BMC Syst Biol.* **6**(Suppl 1): S9.
- Warmflash, A. & Dinner, A.R. (2008) **Signatures of combinatorial regulation in intrinsic biological noise**. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **105**:17262-17267.
- Zeron, S.E. & Santillán M. (2010) **Distributions for negative-feedback-regulated stochastic gene expression: Dimension reduction and numerical solution of the chemical master equation**. *Journal of Theoretical Biology.* **264**:377-385
- Zhang, H., Chen, Y. & Chen, Y. (2012) **Noise Propagation in Gene Regulation Networks Involving Interlinked Positive and Negative Feedback Loops**. *PLoS One.* **7**(12):e51840.
- Zhang, J., Nie, Q., He, M. & Zhou, T. (2013) **An effective method for computing the noise in biochemical networks**. *J. Chem. Phys.* **138**:084106